

## MEDICION DE LA PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PRRS A TRAVES DE FLUIDOS ORALES EN UNA POSTA DE SEMENTALES

Alcántar, P<sup>1\*</sup>; Chevez, J.C<sup>1</sup>; Uribe, A<sup>1</sup>; Pinal, F<sup>1</sup>; Díaz, E<sup>2</sup>; Gómez, G<sup>3</sup>; Cabral, R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Boehringer Ingelheim Vetmedica, Guadalajara, Jalisco, México; <sup>2</sup>Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. St. Joseph, MO;

<sup>3</sup>Fabricas de Alimentos González

patzimba.alcantar@boehringer-ingelheim.com

### Introducción.

Recientemente, un procedimiento basado en la recolección de fluidos orales para la detección del virus de PRRS y su respuesta de anticuerpos fue desarrollada en los laboratorios de la Universidad Estatal de Iowa<sup>1,4</sup>

Los fluidos orales contienen agentes patógenos y anticuerpos, se utilizan para el monitoreo de una variedad de enfermedades infecciosas y no infecciosas. En la investigación y en condiciones de campo, con los fluidos orales colectados de corrales de cerdos infectados con PRRSv se demostró que contienen niveles PCR-detectables. Estos resultados sugieren que muestra de fluido oral puede ser usada para monitorear la circulación de PRRSv en cerdos. La técnica de fluidos orales es ideal para el monitoreo de la prevalencia de agentes infecciosos tales como el PRRSv y el PCV2.

El objetivo del estudio es pronosticar la prevalencia de animales virémicos así como validar la técnica de fluidos orales de manera individual a través de qPCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real).

### Materiales y Métodos

El siguiente trabajo se llevó a cabo en una posta de sementales ubicada en el occidente de país.

1. Se colocó a la altura de los hombros de los sementales, un trozo de cuerda de algodón de 5/8" en 10 de las jaulas para que poder recolectar fluidos orales de manera individual.
2. La cuerda se dejó por 20 a 30 minutos, los cerdos en general, mostraron curiosidad y bastante interés a la cuerda, depositando los fluidos orales durante el proceso
3. Se pasó a la extracción de los fluidos orales bajo la siguiente técnica:
  - Se sostuvo la cuerda mojada dentro de la bolsa, se apretó y/o exprimió la cuerda para que los líquidos se acumularan en la esquina de la bolsa
  - Posteriormente, se cortó la esquina de la bolsa y vertió el contenido en un tubo de plástico con tapadera.

Tres mililitros de la muestra son adecuados para la prueba de qPCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real).

Adicionalmente, se recolectaron muestras de sangre de los mismos sementales a fin de poder comparar los resultados. El RNA viral de las muestras de fluido oral fue obtenido a través del kit comercial MagMAX™-96 Viral RNA Isolation Kit, así mismo, el RNA viral de las muestras de suero fue obtenido a través del kit comercial QiampRNA (QIAGEN). La técnica de PCR tiempo real se realizó utilizando un Kit comercial Applied Biosystems siguiendo las indicaciones del fabricante, en un equipo Smart Cycler (Cepheid)

### Resultados

Al realizar la técnica de qPCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real) individual para ambos tipos de muestras, se obtuvo un 80% de prevalencia de fluidos orales vs 90% de sueros. Los resultados fueron analizados usando la técnica estadística **2-Sample t** (Minitab 16), donde, se demostró que entre la técnica de fluidos orales y la técnica de suero no hay diferencia significativa ya que presenta el valor P=0.066. (Tabla 1)

Tabla 1. Resultados qPCR PRRS

ID	FLUIDO ORAL		SUERO	
	Resultado	Carga viral/ml.	Resultado	Carga viral/ml.
422	NEG	0	POS	3.10×10 <sup>5</sup>
436	POS	5.00×10 <sup>4</sup>	POS	3.30×10 <sup>5</sup>
445	POS	4.90×10 <sup>4</sup>	POS	1.00×10 <sup>5</sup>
657	POS	1.00×10 <sup>5</sup>	POS	9.70×10 <sup>4</sup>
699	POS	1.20×10 <sup>5</sup>	POS	8.60×10 <sup>4</sup>
700	POS	8.50×10 <sup>4</sup>	NEG	0
719	POS	6.70×10 <sup>4</sup>	POS	1.30×10 <sup>5</sup>
810	POS	2.10×10 <sup>5</sup>	POS	1.00×10 <sup>5</sup>
811	POS	7.40×10 <sup>4</sup>	POS	2.50×10 <sup>5</sup>
905	NEG	0	POS	1.30×10 <sup>5</sup>

### Conclusión y Discusión

En base a el protocolo utilizado la técnica de fluidos orales demostró ser un método efectivo para el monitoreo de animales viremicos al PRRSv.

Al usar esta técnica se disminuye de manera importante el manejo y estrés de los animales durante la recolección de muestras a diferencia de la toma convencional de suero.

Lo más importante es que no se encontró diferencia estadística significativa, por lo que podemos confiar en la técnica de fluidos orales para medir prevalencias

### Referencias

1. John Prickett, R. S.-H.-J. (2008). Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in porcine oral fluid samples: A longitudinal study under experimental conditions. *J Vet Diagn Invest* 20, 156–163.
2. Laboratory, C. O. (2006). Surveillance of prrsv and/or PCV2 using oral fluid samples. Iowa State University of Science and Technology .
3. P Hoffmann, J. P.-J. (s.f.). Infectious disease surveillance in wean-finish facilities using oral fluid sampling. Disease Ecology Laboratory, College of Veterinary Medicine, Iowa State University .
4. Prickett, J. R., Simer, R., Yoon, K.-J., & Zimmerman, J. (2008). Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *Journal of Swine Health and Production*.