

## Preguntas que quedaron sin responder durante la sesión 3 de la Jornada Técnica AVPA 2020 (20/04/2020) acerca de monitorización, control y erradicación del PRRS

1

1. **¿Cómo distinguís la inmunidad serológica en una granja negativa a PCR y ELISA positiva, si están vacunando, como la mayoría de las granjas? Si se vacuna, ¿qué sentido tiene hacer ELISA?**

**Fran Gonzalvo (FG):** No la distingo. El ELISA sólo tiene sentido cuando esperamos que sea negativo y lo buscamos comprobar. Si sale positivo es que el virus ha recirculado. Si las cerdas están vacunadas no tiene sentido hacer ELISA de cerdas. Sin embargo, si el flujo de lechones es negativo a PCR a nacimiento y destete (y no vacunamos lechones) el ELISA a 9 semanas de vida o final de transición (cuando ya han caído los anticuerpos maternos) debería ser negativo. Aquí hacer ELISA tiene sentido y si sale positivo nos indica recirculación de PRRS en transición. En granjas PRRS estables/vacunadas (todas hembras positivas) el ELISA antes de las 3 semanas puede dar idea de cómo se han encalostrado los lechones y si realmente todas las cerdas son positivas.

**Jordi Baliellas (JB):** La técnica ELISA solamente nos indica respuesta serológica a contacto con virus vivo, sea campo o vacunal. Solamente es útil en monitorización de granjas libres y en granjas positivas sin vacunación de lechones. En este último caso, con muestreos a final de transición o cebo, si hay animales seropositivos en una de estas dos fases, nos estaría indicando que ha existido contacto con el virus y respuesta serológica detectable desde que perdieron la inmunidad maternal.

2. **¿Qué opinión tenéis sobre la segregación de gestantes entre nulíparas y multíparas para mantener la estabilidad de una granja en una zona vulnerable de alta densidad?**

**FG:** Confinar animales en una nave aislada dentro de la misma granja siempre me parece que es una medida difícil de que se lleve a cabo con éxito en el mundo real. Lo vemos día a día con las naves de cuarentena y cómo se usan (no siempre con éxito).

Entiendo que la medida es en el supuesto de que las multíparas estén en fase de estabilización y entremos nulíparas negativas por lo que queremos protegerlas al máximo del contacto con las multíparas para preservar que se infecten y esperamos que desde la cubrición de las nulíparas hasta el parto nos dé tiempo a negativizar las multíparas...

La idea es buena, minimizar contactos entre susceptibles e infectados nos ayuda a controlar/minimizar la transmisión, pero en la práctica veo muy complicado que nos asegure éxitos. Si bien puede ser una herramienta más dentro de un amplio plan de actuaciones de control.

**JB:** En la pregunta se comenta que la granja debe mantenerse estable, así partimos de la base que al ser estable no hay presencia de virus campo. La forma de mantener esta estabilidad es que no exista ninguna entrada lateral de un nuevo virus, así la mejor forma de evitar esta entrada es tener una buena bioseguridad externa, dentro de este concepto entraría una adecuada cuarentena y muchas otras medidas que se puedan aplicar.

Otro tema sería partir de una granja inestable dónde intentamos disgregar los primeros ciclos del resto, para estabilizar las multíparas de forma separada de las de primer ciclo y así evitar la introducción temporal de animales susceptibles a ser infectados en la zona inestable.

### 3. ¿Cuál sería el protocolo en el manejo de las aguas de lavado de los camiones, o, tienen incorporado producto específico en el agua de lavado...?

**FG:** En principio en todos los lavaderos que conozco se está trabajando con agua apta para uso alimentario, que entiendo, que es potable. Una cosa interesante es valorar la dureza. Si es muy alta vale la pena descalcificar ya que esto permite una mejor dilución del detergente (gana en actividad)

Un buen protocolo de limpieza y desinfección de camiones sería el siguiente:

- 1) Arrastrar los restos más groseros/visibles de serrín y materia orgánica con manguera de alto caudal y baja presión.
- 2) Enjabonar con equipo de alta presión y bajo caudal (importante generar con el detergente una buena calidad de espuma. No está indicada el agua caliente ya que empeora la actividad y la capacidad espumante de algunos jabones)
- 3) Aclarar con agua a alta presión y bajo caudal (si es posible con agua caliente a 50 ó 60 grados. Es difícil usarla más caliente por un tema de riesgos laborales)
- 4) Desinfectar con agua a alta presión y bajo caudal. No suele ser posible secar entre lavado y desinfectado, por eso es muy importante aplicar el desinfectante en forma de espuma para que se adhiera y tapice bien todas las superficies incluso con el camión mojado.
- 5) Cómo medida adicional, existen unos túneles de secado con aire caliente muy interesantes más que como medida de secado propiamente dicha, como medida de desinfección adicional. (El secado también desinfecta)

**JB:** Se debe tener en cuenta que para ser eficaces en una buena limpieza y desinfección la parte fundamental es la inicial de limpieza de toda materia orgánica, si conseguimos reducir al máximo la carga de materia orgánica del camión en esta fase inicial, la etapa posterior de lavado con espuma, agua caliente o fría, desinfección y secado será el remate final del proceso. Finalmente, un buen proceso de limpieza y desinfección de camiones se ve facilitado por un adecuado diseño de los camiones que faciliten este proceso (facilite drenaje, sin espacios vacíos, alfombras de goma, etc.)

### 4. ¿Algún comentario acerca de la vacuna inactivada?

**FG:** Si. Me parece muy interesante su uso siempre en combinación con una vacuna viva atenuada o en animales que han estado expuestos a virus campo (nunca en negativos que no genera respuesta) ya que, según los estudios, está demostrado que potencia la inmunidad celular (y en menor medida la producción de anticuerpos neutralizantes, según pautas de vacunación) que son claves para la protección frente al virus y que sabemos que en todos los casos es parcial. También opino que ante la gran capacidad de mutación de los virus PRRS y las posibles recombinaciones entre cepas, cuando dos de ellas infectan a la vez al mismo animal, una vacuna muerta, sin capacidad para mutar o recombinar, ha de

ser una herramienta importante, máxime cuando, ante casos de PRRS, tenemos tan pocas herramientas disponibles que sean eficaces.

**JB:** El control de la enfermedad del virus PRRS se compone de multitud de herramientas, entre ellas las vacunas, sean vivas o inactivadas. Como muchas otras herramientas que utilizamos para el control, debemos monitorizar y valorar si lo que hemos introducido es eficaz en nuestro objetivo de control, sean parámetros técnicos o analíticos. Después de implantar un programa vacunal nuevo, debemos valorar si hemos conseguido su objetivo y si es conveniente, hacer un nuevo diseño del plan vacunal.

### 5. En vacunaciones en sámana, ¿qué protocolo usáis para minimizar la propagación del virus en los animales?

**FG:** En mi experiencia no somos partidarios, por norma general, de aplicar vacunas de PRRS en granjas estables (ni en sámana ni en ciclo). Lo que sí hacemos es vacunación de emergencia con vacuna viva atenuada en un brote con intención de amortiguar la clínica y “competir” con el virus campo para volver cuanto antes a la estabilidad (esta práctica debe ir siempre combinada con otras medidas imprescindibles como el cierre de granja y el Mc Rebel estricto para aumentar las posibilidades de éxito).

En este caso si me parece muy importante protocolizar la manera en que se realiza la sámana con dos precauciones muy claras a cumplir:

#### 1) Pautar el cambio de agujas tanto como sea posible.

(En Maternidad por sala, en gestación confirmada y cuarentenas por corral y en boxes de cubrición por fila/lote o “cada x cerdas”).

#### 2) Vacunar en un orden estratégico bien definido.

Empezando desde zonas de menor probabilidad de que hayan contactado con el virus e ir desplazándonos para terminar por las zonas más “calientes” o de más riesgo, para intentar que el virus vacunal llegue al mayor número de cerdas antes que el virus campo y para minimizar la transmisión iatrogénica. (Si, como es más probable, hemos detectado el brote por abortos tardíos y/o partos adelantados con nacidos débiles empezaremos vacunando por cuarentena, luego por cubrición (de menos a más días postinseminación, dejando para el final el lote de las cerdas recién destetadas si sospechamos que pueden venir ya infectadas) y por último la gestación confirmada de menos a más días y la maternidad (en orden opuesto) desde el destete hacia los partos. También es interesante que en las diferentes áreas/naves vacunen personas distintas para que no transmitan el virus (en especial en gestación confirmada y maternidad que son las zonas de más riesgo de infección y que se deben vacunar al final).

**JB:** Responderé teniendo en cuenta que la granja es inestable, hay presencia de virus campo e intentamos evitar la propagación del virus campo en los animales. En primer lugar, tal como comenta Fran, cambiar las agujas con la mayor frecuencia posible o cómo alternativa utilizar un sistema de aplicación sin aguja. Evidentemente, si decidimos vacunar en sámana, hacerlo de la forma más correcta en el menor tiempo posible.

### 6. ¿No recomendáis vacunación con vacuna viva para la estabilización de una cepa muy virulenta?

**FG:** Si, lo recomendaría. Siempre y cuando se tenga en cuenta que vacunar no puede ser la única medida y que los resultados no van a ser milagrosos. Hay que encajar el golpe, dar tiempo al tiempo (vamos a pasar 8 semanas muy malas y hemos de esperar que los resultados mejoren a partir de las 20 semanas/una vuelta completa de granja) y, como he dicho antes, implementar las medidas imprescindibles de cerrado temporal de granja, sin entradas de reposición hasta la estabilización, Mc Rebel estricto y realizar la sábana con las máximas medidas de higiene y en el orden estratégico.

**JB:** Se puede recomendar con cepas muy virulentas y menos virulentas. Es una de las herramientas que disponemos y deberíamos esperar una mejora a las pocas semanas de su aplicación. Debemos también valorar los riesgos si aparte de ser una cepa virulenta, tenemos cT muy bajos en los animales indicando altas cargas víricas.

**7. ¿Cómo se explica tener Pool + al nacimiento y todos negativos al destete? ¿El animal ha muerto? ¿La inmunidad de grupo bloquea la difusión? ¿Qué riesgo se estima?**

**FG:** No es una situación que cabría esperar con asiduidad, aunque puede ocurrir de manera puntual. Creo que, si hay lechones virémicos al nacimiento, van a seguir siéndolo cuando lleguen al destete. Esa situación se da cuando en una granja estable (PCRs negativos al destete) aparece un brote en partos y no ha llegado todavía al destete (que permanece negativo) pero es cuestión de, como máximo, 4 semanas que también el destete salga positivo. En las circunstancias de un control/erradicación cuando estemos cercanos a estabilizar iremos encontrando cada vez más pooles negativos y sólo de vez en cuando unos pocos positivos (subpoblaciones) aunque es más fácil encontrarlos al destete que al parto.

**JB:** Lo más probable es que si hay pooles positivos al nacimiento, el mismo lote tendrá positivos al destete. La tendencia es que aumente el porcentaje de animales infectados desde el nacimiento al destete. La inmunidad de grupo siempre ayudará y quizás en situaciones de muy bajo porcentaje de portadores al nacimiento, esta inmunidad de grupo nos puede ayudar a mantener o reducir la presencia de portadores al destete. Siempre teniendo en cuenta que apliquemos las medidas óptimas de bioseguridad interna para reducir la transmisión entre lechones, entre cerdas y también entre lechones y cerdas.

**8. Jordi, en los pilares básicos de la erradicación de PRRS has comentado como el principal el cerrado de la granja. ¿Qué opinión te merece la entrada de reposición adaptada al mismo virus PRRS en granjas sin recría en las que perderíamos censo? ¿Alternativa?**

**FG:** Entiendo que adaptar a cualquier virus los animales que entramos a un sistema es una medida válida de control pero no de erradicación. La erradicación implica eliminar el virus del sistema y eso nos obliga a entrar exclusivamente negativos y sólo cuando podamos asegurar que los animales de dentro son negativos también. Entrar “adaptados” sirve para mantener la situación de positivo ¿estable? Seguramente puede ser un paso previo necesario antes de plantearse la erradicación, pero cada entrada de animales positivos en el sistema la está retrasando en el tiempo.

La mejor opción es hacer una entrada grande de reposición (para 6 meses si es posible) inmediatamente antes de realizar la vacunación de emergencia y el cerrado de granja con el objetivo de no bajar censo y no necesitar hacer entradas hasta que se haya conseguido

la estabilización total del brote. Cuando volvamos a entrar animales con la granja ya estabilizada, éstos tendrán que ser negativos.

**JB:** El sistema de adaptación de la reposición con el mismo virus de la granja tiene sus riesgos, si se realiza en una recría externa debe considerarse el riesgo de la aparición de problemas en otras granjas del entorno en zonas de carga ganadera porcina. El punto más importante para que sea eficaz es que exista contacto en el máximo número de animales, una respuesta inmune eficaz y no estén excretando cuando entren en el hato reproductor. La única forma de ratificarlo es monitorizando continuamente y con un muestreo amplio. Una de las posibles alternativas sería la entrada de la máxima cantidad posible de reposición futura en la fase de brote, para que tengan contacto con el virus que está circulando y les genere inmunidad a la misma cepa.

### 9. Para Jordi, ¿qué nos puedes decir de los brotes de PRRS del Alt Emporda/Girona de 2020 y su virulencia?

**JB:** Con la información que disponemos hasta finales de abril, podemos tipificar a la cepa detectada en algunas granjas de Girona como virulenta. No es la primera vez que se detectan cepas de este tipo en España, en los últimos años han aumentado y una de las causas, desde mi punto de vista, es el aumento de entrada de animales importados sin ser analizados frente al virus PRRS a su llegada (lechones, híbridas o verracos). Ya que varias de estas cepas virulentas detectadas, filogenéticamente no parecen de origen español. En España, tenemos la suerte de disponer varias bases de datos de secuencias para poder consultarlo. La secuenciación Sanger de la región ORF5 de las detecciones de Girona también ha determinado que, hasta la fecha, no tiene similitudes significativas a otras detecciones de las bases de datos consultadas, sean españolas o incluso de otros países.

### 10. ¿Qué valoración dais al valor “cT” de una PCR? ¿Valores bajos deberían imponer un nivel de control más estricto?

**FG:** El valor “cT” nos da una idea de la carga vírica que tiene un pool positivo a PCR. cTs bajas nos orientan hacia una prevalencia alta (entiendo que la mayoría de los animales muestreados en el pool serán positivos y/o con carga vírica alta/muy alta). Creo que el valor cT nos puede ayudar a confirmar la tendencia de la recirculación del virus si lo comparamos con muestreos anteriores y lo seguimos en el tiempo. Me interesa especialmente comprobar que los cTs suben conforme nos alejamos de un brote y nos acercamos a la estabilización gracias a las medidas de control adoptadas. Sin embargo no creo que haya que basar diagnósticos o tomar decisiones motivadas por un valor cT, que aunque se expresa con números nos orienta de manera muy “cualitativa.”

A la hora de elegir un pool positivo para secuenciar también tiene interés seleccionar los de cTs más bajas para asegurar que va a haber suficientes copias de virus para que la técnica de secuenciación funcione correctamente.

**JB:** El cT de una PCR nos indica una aproximación de la cantidad de copias (carga vírica) que existe en un volumen determinado de muestra. Es importante destacar que existe una variabilidad dependiendo del protocolo de PCR de cada laboratorio, por eso es importante siempre comparar valores en las mismas condiciones de procesado. Cuando un animal

empieza a tener una respuesta inmune eficaz frente a una cepa vírica determinada, la capacidad de replicación del virus tendría que ser menor y en consecuencia la carga vírica en el mismo tejido tendría que disminuir. Los valores bajos de cT dependen de muchos factores cómo puede ser la cepa vírica vs estado inmunitario del animal frente a esta cepa, los valores bajos nos indican que hay una gran cantidad de copias víricas en la muestra analizada. En una monitorización constante adecuada en situaciones de estabilización eficaz, los cT deberían aumentar y en algunas condiciones incluso las de los pools (el cT de un pool siempre se aproxima al cT de valor más bajo de las muestras individuales del pool, no es un promedio de los cT de todas las muestras.)

**11. ¿De cuántos sueros hacéis los “pooles” para PCR? y ¿lo tenéis normalizado? es decir, ¿siempre del mismo número o dependiendo de la prevalencia esperada?**

**FG:** Hacemos siempre pools de 5 tubos. Entiendo que es el límite hasta donde llega el umbral de sensibilidad de un PCR (o sea que con un solo animal positivo el pool de 5 saldría positivo también), por lo que nos transmiten desde los laboratorios. Por otro lado, considero que, a nivel de monitorización, es una buena práctica hacer siempre pooles del mismo número de tubos para que los valores sean comparables entre diferentes muestreos o granjas de nuestro sistema.

Tal vez en momentos finales de un plan de erradicación, cuando ya están saliendo todos los pooles negativos podría ser adecuado hacer pooles más pequeños o hasta PCRs individuales para maximizar el margen de seguridad de que todas las muestras son realmente negativas. Aunque también se podría conseguir más seguridad ampliando el muestreo.

**JB:** Si hablamos de pooles de sueros, la mayoría de kits certifican que tienen validada la sensibilidad y especificidad de la técnica en un máximo de 4-5 sueros. Por otro lado, existen estudios que acreditan buenos resultados en pooles de sueros de mucha más cantidad de muestras, con los condicionantes de la cantidad de muestras positivas y los cT de estas muestras. También llevamos unos años utilizando muestras agregadas (fluidos orales, fluidos de procesamiento de testículos o colas y fluidos de muestras de cadáveres cómo lenguas) en los cuales estamos haciendo “pooles” de un grupo de mayor de animales. Incluso se están utilizando estas nuevas técnicas de muestreo, para monitorizar granjas en fase de estabilización o erradicación con igual o mejor éxito que el sistema convencional de pooles de 5 sueros. Hay estudios que con un suero de cT 27 o menos podrían hacerse pooles de más de 100 sueros. Solamente recordar, con un mismo volumen de muestra, una muestra con un cT alrededor de 20 podría contener del orden de millones de copias víricas y con un cT alrededor de 35 contendría centenares de copias. Por eso partiendo de un cT de 20, con millones de copias, podremos diluir este positivo con muchas muestras negativas hasta llegar al límite de detección de la técnica PCR que suelen ser una baja cantidad de copias.

Lo importante es que, si queremos utilizar un monitoreo continuo, decidamos el protocolo que utilizaremos en aspectos como tipo de muestra, cantidad de animales muestreados, fases y frecuencia, para que podamos interpretar los resultados de forma armonizada. La cantidad y la frecuencia se verá aumentada si queremos un más alto nivel de confianza y prevalencia esperada. Siempre dependiendo del objetivo que tengamos: control, erradicación, vaciados de fases, reducción de la presión de infección, etc.

