

CONTROL INTEGRAL DEL PRRSV MEDIANTE EL CONCEPTO DE LAS 5 FASES: REVISIÓN CRÍTICA

Comprehensive control of PRRSV through the 5-phase concept: critical review

Sala-Echave, R.^{1,2}, López-Úbeda, R.³, Ramis, G.¹ y Hernández-Caravaca, I.^{4*}

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España. ²Pig Improvement Company (PIC), España. ³Departamento de Biología celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Murcia, España. ⁴Boehringer-Ingelheim Animal Health España S.A.

* **Autor de correspondencia:** ivanhc16@hotmail.com

Enviado: 30/03/2021

Aceptado: 9/11/2021

RESUMEN

El Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV) es una enfermedad viral que causa importantes pérdidas económicas y productivas, afectando la reproducción en cerdas gestantes, la calidad del semen en verracos y, ocasionando enfermedad respiratoria en lechones en transición y cebo, reduciendo el crecimiento de los cerdos y provocando un aumento de la mortalidad. Este síndrome cuenta con diversas cepas patógenas, muchas de ellas no incluidas en las actuales vacunas. En consecuencia, los cerdos nunca estarán completamente protegidos frente a esta enfermedad, debido a la capacidad permanente de recombinación y mutación propia del virus. El proceso de las 5 fases surge fruto de la experiencia y la búsqueda de desarrollar metodologías que unifiquen criterios y herramientas de diagnóstico, prevención y bioseguridad para el control de esta enfermedad. En conclusión, la plataforma de las 5 fases hace posible el abordaje en conjunto de la enfermedad, sirviendo como herramienta integral de utilidad para el control exitoso de esta enfermedad.

Palabras clave: Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV), control integral del PRRS, 5 fases.

ABSTRACT

Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome is a viral disease, which causes important economic and productive losses, affecting reproduction in pregnant sows, semen quality in boars and, causing respiratory disease in growing and fattening piglets, reducing pig growth and causing increased mortality. This syndrome is caused by several pathogenic strains, many of which are not included in current vaccines. Consequently, pigs will never be completely protected against this disease, due to the permanent recombination and mutation capacity of the virus. The five-phase process is the result of experience and the search to develop methodologies that unify criteria and tools for diagnosis, prevention and biosecurity for the control of this disease. In conclusion, the 5-phases platform makes it possible to approach the disease as a whole, providing it as an integral tool for success on this disease.

Keywords: Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome (PRRSV), integral control, 5 phases.

INTRODUCCIÓN

La industria porcina es la más relevante a nivel mundial dentro de la industria cárnica (Knox, 2014). Alcanza un consumo anual de 110 millones de toneladas, lo que representa el 37% de toda la carne consumida (Zhang et al., 2018).

RELEVANCIA ECONÓMICA

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) es una enfermedad de carácter global, que afecta a la industria porcina mundial, generando grandes pérdidas económicas, reduciendo la rentabilidad de los productores y haciendo a los países menos competitivos.

Se ha convertido en la principal enfermedad endémica en la producción porcina mundial (Velasova et al., 2012).

El control y/o erradicación del PRRS resulta complicado debido a diversas situaciones, como la diversidad de las cepas que prevalecen en las explotaciones o comprender como se introduce el virus en las granjas y se enquista en ellas. Aunque diferentes aproximaciones se han desarrollado para intentar mitigar el efecto y consecuencias de la introducción del patógeno, el problema no ha sido controlado de manera satisfactoria (Cho y Dee, 2006).

A día de hoy el diagnóstico y control de la enfermedad continúa siendo de vital importancia tanto a nivel económico como productivo.

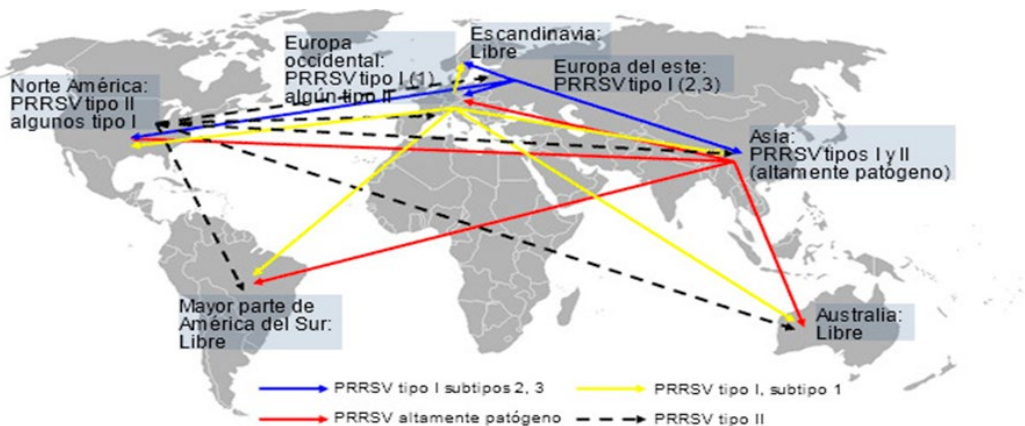


Figura 1: Distribución global del virus. Fuente: Cano, J.P. (2012).

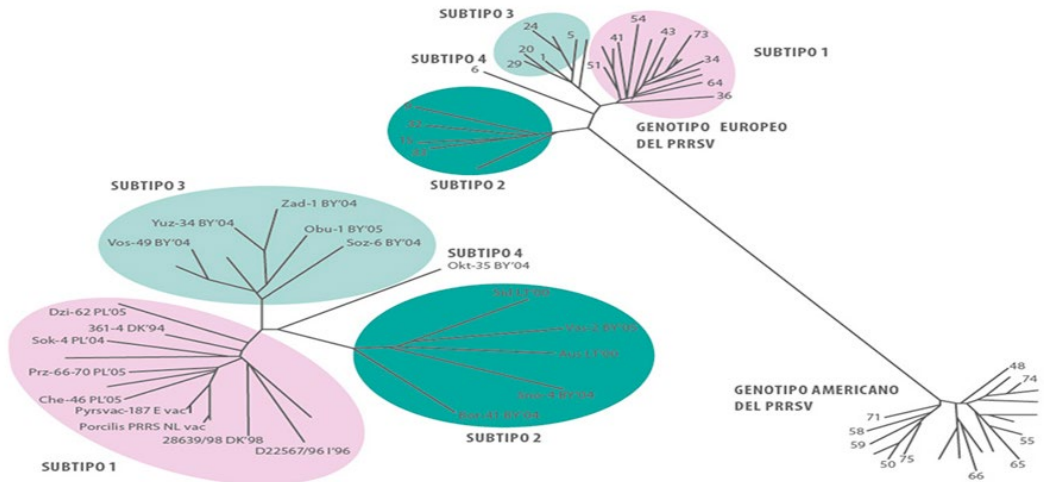


Figura 2: Árbol filogenético del PRRSV. Fuente: Stadejek et al., (2006).

SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRSV)

Etiología

El PRRS está producido por un agente viral RNA, que pertenece al orden Nidovirales (Cavanagh, 1997), familia Arteriviridae, género Arterivirus, modificado a Rodartevirus (Kuhn et al., 2016). Las cepas del virus han sido divididas en dos especies distintas gracias a su diversidad genética, aunque causen la misma enfermedad y compartan características biológicas similares. Recientemente ha sido nombrado dentro del género Betararterivirus, Betararterivirus 1 para el tipo PRRSV-1 y Betararterivirus 2 para el PRRSV-2 (Stoian y Rowland, 2019).

Existen importantes diferencias de virulencia y patogenicidad entre aislados (Halbur et al., 1996; Mengeling et al., 1996) ya sea en la forma reproductiva de la enfermedad (Steverink et al., 2000) como en la forma respiratoria de la (Halbur et al., 1996; Halbur et al., 1995).

La variabilidad de la virulencia del virus, probablemente ha sido el desencadenante de

diversos episodios con manifestaciones clínicas graves, dándose mortalidades importantes en animales en crecimiento y sorprendentes problemas reproductivos (Zimmerman et al., 1997). Destacan cepas de altísima patogenicidad como la MN-184 y la 1-8-82 (Murtaugh, 2009) o nuevas cepas como la MN 414/2014 con alta morbilidad y mortalidad en cerdas y lechones, incluso en granjas vacunadas regularmente (Wang et al., 2015). Así mismo Chen et al., (2020) identifica PRRSV-1 y diferentes variantes de PRRSV-2 en China de 2016 a 2019, donde HP-PRRSV-2 (cepas altamente virulentas) y PRRSV-2 tipo NADC30 son los subtipos predominantes. En Europa se ha descrito la variante Lena, SU1-bel, AUT-15, PRRSV1_PR40/2014, etc. (Tian et al., 2007; Karniychuk et al., 2010; Morgan et al., 2013; Canelli et al., 2017; Sinn et al., 2016.).

Stadejek et al. (2006, 2008, 2013 y 2017) (Figura 2) describen que al menos existen cuatro subtipos dentro del genotipo 1. De los cuales, el subtipo 1 incluye todos los aislados que circulan en Europa Occidental y el resto están compuestos por distintos aislados de Europa del

Este, indicando los resultados que la variabilidad del virus es muy superior en el este de Europa.

Pese a la existencia de cambios de virulencia asociados a regiones no traducibles del genoma, en el extremo 5' como en el 3' (Wang et al., 2008), no ha sido posible encontrar los determinantes genéticos involucrados en la virulencia o en la atenuación de ninguna cepa del PRRSV (Murtaugh, 2009), ya que las bases genéticas de la virulencia son probablemente multigénicas, o propias de cada cepa, tal como ocurre con el virus de la gripe (Hoffmann et al., 2005).

Epidemiología

El auge de la producción porcina mundial y la globalización de la economía han facilitado la propagación y perpetuación de la infección debido al aumento de censo en numerosos países, zonas de alta densidad porcina, aumento del tamaño de las granjas, movimientos de animales vivos destinados a cebo o a reproductores, crecimiento de la inseminación artificial y, por ende, distribución del semen, etc.

La infección por PRRSV puede ser variable y estar supeditada a determinados factores como, la virulencia de la cepa, si la cepa es nueva o endémica de la granja (la propia granja), estado inmunitario previo de los animales, edad de los animales, estado de gestación de las cerdas, además de la resistencia genética a la infección inherente a cada raza porcina. En base a esto, se lograron detectar diferencias de susceptibilidad genética al virus PRRS en líneas genéticas comerciales (Large-White y Duroc-Pietrain) (Vincent et al., 2006).

En ocasiones, la infección puede pasar inadvertida o manifestarse debido a complicaciones bacterianas en la transición y el engorde. Para controlar y/o erradicar PRRSV es imprescindible conocer y romper los ciclos epidemiológicos de la enfermedad. La persistencia de la infección es más probable cuanto mayor es

el tamaño del rebaño y donde las cerdas de reposición no son aisladas del resto de forma adecuada.

Animales persistentes

El PRRSV es capaz de persistir en cerdos como portadores a largo plazo cuando el sistema inmune de los animales afectados es incapaz de eliminar el virus de aquellos lugares donde se acantona (Allende et al., 2000). La persistencia de la infección desarrolla un papel preponderante para la supervivencia del virus, así como para la propia transmisión en una población y dificulta el control de la enfermedad haciéndola más difícil de detectar en los tejidos en los que se acantona (Wills et al., 2003). Esta vía de infección subclínica podría ser una ruta de entrada del virus a las explotaciones (Mortensen et al., 2002).

Vías de entrada y de transmisión

El virus es altamente infeccioso siendo la dosis infecciosa de 10 partículas víricas vía intranasal o intramuscular (Benfield, 1999), pero no es altamente contagioso. La vía principal de contagio es por contacto con animales infectados (transmisión directa). La infección podría acontecer por vía intranasal (Rossow et al., 1994), intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, oral o vaginal, donde las dosis infectivas mínimas varían (Hermann et al., 2005). Existe transmisión hasta 22 semanas post-infección (p.i.) en lechones y hasta 99 días después en animales adultos (Albina et al., 1994), aunque en la mayoría de los estudios la transmisión queda limitada a los dos primeros meses p.i. (Wills et al., 2003).

La transmisión vía vertical, de la madre a los embriones o fetos en desarrollo vía transplacentaria (Christianson et al., 1992) ocurre durante el último tercio de gestación en cerdas activamente infectadas (Lager y Mengeling, 1995).

Los fómites (agujas, manos, botas y ropa del personal de granja, camiones) son fundamentales en la transmisión, así como vectores biológicos como mosquitos *Aedes* spp., y moscas domésticas (Otake et al., 2003; Otake et al., 2002).

La vía aerógena también se considera una forma posible y demostrada de transmisión (Velasova et al., 2012), aunque es más controvertida y parece depender de factores ambientales, como bajas temperaturas, bajos niveles de luz solar, baja velocidad del viento, alta humedad relativa (Dee et al., 2011) y también de las cepas.

Periodo de incubación, viremia y patogenia

El periodo de incubación es muy variable: entre 3-24 días (Dee, 1992) e incluso periodos de 12 horas, aunque normalmente oscila entre 1 y 7 días (Ramírez, 2015).

Una vez en el organismo, el virus pasa a la tonsila o al sistema respiratorio. La replicación primaria acontece en el pulmón y los órganos linfoides, multiplicándose en macrófagos del cornete nasal, tonsilas y/o pulmón, concretamente en los macrófagos alveolares pulmonares (MAP), convirtiéndose estos últimos en células diana para el PRRSV (Duan et al., 1997) donde mediante apoptosis y lisis celular es liberado a la circulación sanguínea y se distribuye por todos los tejidos (Lee y Kleiboeker, 2007). Durante este suceso ocurre la secreción de citoquinas proinflamatorias (IL-1 α y β , TNF- α , IL-6, IL-12) y antiinflamatorias (IL-10) que juegan un papel en la patogenia de la enfermedad (Rahe y Murtaugh, 2017) resultando en neumonía intersticial, encefalitis, miocarditis y artritis, desarrollando la enfermedad clínica, cuadro que dependerá de la edad del animal y de la cepa viral (Rossow et al., 1994; Karniychuk et al., 2010; Renson et al., 2017; Rodríguez-Gómez et al., 2019). El PRRSV aumenta la susceptibilidad de los pulmones a otros patógenos.

El cuadro clínico y las lesiones provocadas

sufren variaciones, desde severas a una ausencia total de signos clínicos (Mengeling et al., 1996). Este cuadro dependerá del estado fisiológico, la edad (Wensvoort, 1993), la genética del animal, así como de la virulencia de la cepa (Zuckermann et al., 2007) además del tropismo entre aislados (Halbur et al., 1996).

En lechones, la infección ocasiona enfermedad respiratoria produciendo principalmente neumonía intersticial (Rossow et al., 1994), agravándose por la implicación de otros agentes (Cho y Dee, 2006), especialmente bacterias (Van Gucht et al., 2004), aunque también por virus como el Circovirus Porcino tipo 2 (Sinha et al., 2011), pudiendo existir diferencias entre cepas aisladas en cuanto a la gravedad de la enfermedad respiratoria (Karniychuk et al., 2010). Es común que aparezca fiebre, depresión, letargo, neumonía, estornudos, y disnea respiratoria, afectando el posterior desarrollo de los cerdos.

En cerdas gestantes, el virus atraviesa la placenta al final de la gestación (después del día 72) pudiendo provocar abortos o partos adelantados con nacidos débiles y un aumento de nacidos muertos.

En verracos el PRRSV se ubica en la cabeza, cuerpo y cola del epidídimo, la próstata, glándulas bulbouretrales, vesículas seminales y testículos (Prieto et al., 2003), provocando trastornos reproductivos con una pobre calidad espermática (Schulze et al., 2013), fiebre, letargia, anorexia, vómitos, etc., (Hopper et al., 1992).

Respuesta inmunitaria

Las células diana del PRRSV son los macrófagos diferenciados y posiblemente las células dendríticas mieloides, factores claves en las respuestas inmunitarias innata y adaptativa (Karniychuk et al., 2010; Renson et al., 2017; Rodríguez-Gómez et al., 2019).

En la respuesta innata, la susceptibilidad de los macrófagos depende del genotipo del virus y la polarización del macrófago (García-Nicolás et al., 2014). El PRRSV inhibe las respuestas de

interferón tipo I (IFN) en macrófagos (Albina et al., 1998), lo cual podría deberse en parte a la interacción de proteínas no estructurales del virus con las vías de interferón de la célula (Sun et al., 2012). La capacidad de inhibir las respuestas a IFN-alfa en células dendríticas plasmacitoides también depende de la cepa, siendo el genotipo 1 escasamente inhibidora (Baumann et al., 2013). Hay indicios de que la respuesta inmunitaria innata se ve afectada cuando la infección produce citoquinas inmunosupresoras como la IL10 (Suradhat et al., 2003).

En la respuesta humoral, los anticuerpos frente al patógeno se incrementan rápidamente (aproximadamente 1 semana p.i.) (Meier et al., 2003), enfrentándose a la proteína estructural inmunodominante de la nucleocápside vírica, aunque carecen de capacidades neutralizantes (Loemba et al., 1996). Primero, predominan las IgMs y alrededor del día 21 p.i. las IgGs (Yoon et al., 1994). Los anticuerpos neutralizantes son encaminados generalmente hacia GP3, GP4 y GP5 y de forma tardía hacia GP2 (Díaz et al., 2005). A pesar de no estar claro el rol de los anticuerpos neutralizantes, la transferencia pasiva de éstos es eficaz en la prevención de la viremia en cerdas y en lechones siempre que los niveles de anticuerpos alcancen un umbral crítico (Osorio et al., 2002). Existen cepas que inducen niveles muy bajos o nulos de anticuerpos neutralizantes (Díaz et al., 2012). Generalmente estos anticuerpos neutralizantes aparecen alrededor del día 28 p.i. (Loving, et al. 2015).

La inmunidad celular evoluciona gradualmente, sufriendo altibajos durante varias semanas o meses antes de su estabilización (Meier et al., 2003). Se ha señalado una correlación cualitativa entre el nivel de IFN- γ y la protección (Díaz et al., 2005). El PRRSV tiene varios mecanismos para escapar al control del sistema inmunitario, uno es la interacción con macrófagos y células dendríticas y otro mecanismo es la existencia de un epítipo señuelo cercano al epítipo de neutralización que se encuentra en la glucoproteína GP5 (Ostrowski et al.,

2002), aunque actualmente ha sido puesto en duda después de constatar que, *in vivo*, solo una proporción menor de viriones circulantes conservan este epítipo señuelo (Thaa et al., 2013). La glucoproteína GP4 del genotipo 1 contiene una región hipervariable donde se encuentra un epítipo de neutralización, el cual sugiere un mecanismo de desvío del virus (Vanhee et al., 2010). Otros mecanismos de escape es la presencia de sitios de glucosilación en las proteínas de envoltura, ya que la eliminación de sitios de glucosilación en el epítipo de neutralización de GP5 promueve la inmunogenia, y la adición de N-glucanos reduce la inmunogenia (Ansari et al., 2006), en el caso del genotipo 2 la glucosilación de GP3 influye en el reconocimiento inmunitario (Das et al., 2010). Se ha descrito que los macrófagos infectados no expresan glucoproteínas del PRRSV en la membrana plasmática (Costers et al., 2006) lo cual impediría la unión de anticuerpos a células infectadas y su erradicación a través del complemento y fagocitos. También se ha descrito que se forman linfocitos T citotóxicos pero que existen problemas para erradicar los macrófagos infectados por PRRSV (Costers et al., 2009).

Al igual que otros virus, el PRRSV interactúa con una proteína específica, un receptor para ingresar a la célula, donde puede replicarse, llamado CD163 (Lunney et al., 2016). Se ha demostrado que los cerdos editados genéticamente que carecen de todo o solo parte de CD163 son resistentes a la infección por PRRSV. Se sabe que CD163 tiene una gama de funciones biológicas importantes en la homeostasis, la inflamación y la respuesta inmune. Se demostró que los cerdos que carecen solo de una parte de CD163 mantienen las funciones biológicas asociadas con la proteína.

Recientemente Pig Improvement Company (PIC) ha desarrollado en colaboración con la Universidad de Missouri y el Instituto Roslin (Easter Bush, Midlothian, Scotland, UK, EH25 9RG) otro sistema de control de la enfermedad que ha supuesto un gran avance científico para

el control y erradicación de la enfermedad a través de la edición genética (Chen et al, 2019; Whitworth et al., 2017, Wells et al., 2017).

Diagnóstico

Aunque existen técnicas para diagnosticar la infección, ninguna tiene una fiabilidad del 100% en todas las condiciones y para todos los animales (Tabla 1). Para una correcta interpretación, es importante realizar las pruebas apropiadas, en el momento adecuado y con los animales pertinentes y de esta manera poder optimizar el manejo y la prevención/control eficaz de un brote. Por tanto, es imprescindible combinar una estrategia de vigilancia continua y diagnóstico de la enfermedad para controlar y erradicar la infección en grupos de cerdos (Velasova et al., 2012).

Tratamiento y control

Pese a los numerosos avances en la mejora del diagnóstico del agente causal, conocimiento epidemiológico, bioseguridad y patogenia, la realidad es que no existe un tratamiento específico contra el PRRSV.

Se han llevado a cabo múltiples programas para prevenir la infección o mitigarla, como es la exposición de cerdas jóvenes a la cepa del virus resistente (Corzo et al., 2010). Una forma de exposición indirecta sería, mediante retroalimentación tisular, donde la cepa PRRSV específica se recolecta de tejidos infectados para retroalimentar a los cerdos que necesitan desarrollar inmunidad (Desrosiers y Boutin, 2002). La despoblación-repoblación es el más extendido y menos costoso para la eliminación del PRRSV teniendo un alto grado de eficacia en rebaños

Tabla 1: Principales pruebas diagnósticas frente al PRRSV (Ellingson, 2013).

Prueba diagnóstica	Rango utilidad	Observación
RT-PCR	Niveles víricos séricos máximos a los 4-7 DPI; indetectable a los 29-35 DPI (persiste más tiempo en ganglios linfáticos y amígdalas).	Muy sensible, muy específica
IHQ	Hasta 28 DPI; no recomendada más allá de 90 DPI.	Alta especificidad; sensibilidad moderada. Eficaz en transmisión vertical; quizá no sea eficaz con algunos aislados genéticamente diversos.
Tinción con AF	Estadios precoces (1-28 DPI), y tras la incubación en cultivo celular de líquido de lavado en estadios intermedios (30-70 DPI). No recomendado en estados tardíos.	Quizá no detecte aislados genéticamente diversos.
ELISA	Detección precoz con IgM (7 DPI). Detección estadios muy tardíos de infección (>100 DPI).	Altamente sensible y específica; baja sensibilidad con fluidos bucales; los niveles de anticuerpos detectados no reflejan necesariamente virulencia.
FMIA	En suero, anticuerpos 7 DPI y podrían persistir más allá de 202 DPI.	
IFA indirecta	Infecciones precoces (5-9 DPI), 21-28 DPI para IgM y 90-145 DPI para IgG.	Alta especificidad; sensibilidad variable.

con múltiples cepas y un número significativo de otras enfermedades (Corzo et al., 2010). Por otro lado, el uso de vacunas vivas atenuadas (MLV) reducen la viremia y pueden limitar la gravedad de los signos clínicos asociados (Scotti et al., 2006), reducir la transmisión (Rose et al., 2015), así como disminuir la excreción de virus (Pileri et al., 2017). Sin embargo, la eficacia dependerá en gran parte de la inmunidad cruzada entre la cepa vacunal y la cepa desafío (Meng, 2000). En el caso de PRRSV de baja inmunogenicidad es difícil desarrollar vacunas eficaces debido a que el virus puede inhibir la respuesta de interferones tipo I (Chen et al., 2010), siendo esta función necesaria para generar una respuesta inmunitaria sólida. Las vacunas inactivadas, utilizadas en combinación con vacunas MLV, al parecer presentan una baja eficacia (Zuckermann et al., 2007), ya que generan respuesta inmune pobre tras la vacunación (Scotti et al., 2007).

A estas dificultades hay que sumarle la propia variación del virus, persistencia en los tejidos, dinámica de la infección, supervivencia en el ambiente y la alta densidad porcina en ciertas zonas (Valdes-Donoso et al., 2016), que hace complejo el control de la enfermedad.

ESTRATEGIA INTEGRAL PARA EL CONTROL DEL PRRSV EN 5 FASES

El control del PRRSV requiere una comprensión completa de la enfermedad y una serie de herramientas para alcanzar el éxito a largo plazo, para ello en el año 2008 Boehringer Ingelheim Vetmedica diseñó un proceso estandarizado de trabajo para el control de PRRS. Los objetivos son potenciar al máximo la inmunidad, reducir la exposición al virus y evitar nuevas infecciones. Las 5 fases utilizan el método científico y la filosofía de mejora continuada conocida como iSixSigma, basada en la metodología Definir-Medir-Analizar-Mejorar-Controlar (iSixSigma, 2020). (Figura 3).

Esta metodología resultó útil para apuntalar programas de control a nivel de granja y de

empresa no solo en Estados Unidos si no a nivel mundial (Mondaca et al., 2014, Rathkjen y Dall 2018). Esta aproximación a nivel de granja dio lugar a un abordaje más regional y colaborativo entre empresas. Las directrices para la aplicación de las 5 fases a nivel regional se publicaron y sirvieron y sirven, de guía a muchas áreas de control PRRS a nivel zonal en Estados Unidos y en Europa (Mondaca et al., 2014; Rathkjen y Dall 2018)

A continuación, se describen en detalle las fases del método:

Fase 1. Identificar los objetivos

El objetivo del proyecto es un momento importante de dialogo entre todos los implicados en él. Se debe definir un objetivo que sea medible en el tiempo y que de cumplirse determinaría el éxito del programa. Este además debe ser alcanzable, realista y ajustado a la bioseguridad inicial de la explotación. El objetivo puede ser modificado si al evaluarse la bioseguridad en la fase 3 se cree demasiado ambicioso. Algunos ejemplos de los objetivos más frecuentes son la estabilización una granja de reproductoras consiguiendo la ausencia de circulación de PRRSV residente en la población, mejora de parámetros reproductivos, mejora de los resultados productivos de las fases de transición o cebo, siendo la reducción de la utilización de antibióticos otro de los objetivos en auge dado el contexto internacional al respecto. A estos objetivos los llamaremos indicadores clave de rendimiento del proyecto (KPI).

Fase 2. Determinar el estatus

La comprensión del estatus de infección incluye dos componentes: la determinación de la exposición al PRRSV y/o la circulación activa en la granja de reproductoras. Para ello, podemos realizar pruebas PCR en grupos de cerdos destetados. Este esquema analítico permitirá comprender los positivos al destete. Por

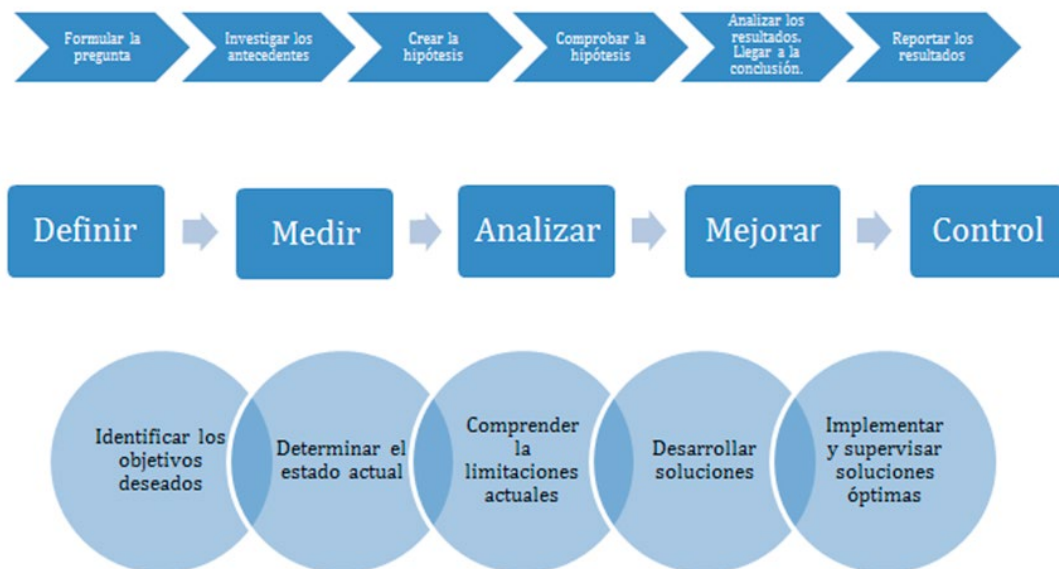


Figura 3: Control de PRRSV en 5 fases. Fuente: Modificado de iSixSigma, 2020.

otra parte, la prueba ELISA es una herramienta útil para determinar la estabilidad de grupos de cría, pero es necesario estandarizarlo mediante muestreo cada 3-4 meses. Una combinación de PCR en lechones y ELISA en grupos de cría proporcionará una buena imagen del estado de circulación del PRRSV en los grupos.

Además de la supervisión de grupos de cría, es posible determinar la exposición al PRRSV en la fase de producción de crecimiento-acabado con un número reducido de pruebas ELISA en el acabado tardío verificando que un flujo o grupo previo de cerdos se haya expuesto al virus, o con diagnósticos previos del flujo porcino, el perfil serológico transversal, o conocimiento del origen porcino o el riesgo de PRRS en una zona de acabado de cerdos.

En todos los proyectos de utilización de las 5 fases a nivel mundial se ha estandarizado el muestreo para determinar la estabilidad de una explotación siguiendo las recomendaciones de la Asociación Americana de Veterinarios de Porcino (AAVS). En estas recomendaciones se pro-

pone un muestreo en base a muestras de sangre 30 lechones al final de la lactación de manera mensual. A estos sueros se les realizan PCRs en pools de 5 muestras. En base a los resultados se categorizan las granjas en: Categoría I (positivo inestable/positivo): animales infectados (una o todas las muestras de PCR resultan positivas) y que diseminan el virus, Categoría II (positivo estable): cuando tenemos 4 resultados consecutivos negativos por PCR consideramos a la explotación positiva estable. Categoría III: provisional negativa es considerada la granja que estando inmersa en un programa de eliminación del virus introduce reposición negativa en la granja y estando estas cerdas en contacto directo con las multíparas, permanecen ELISA y PCR negativas transcurrido un periodo mínimo de 60 días desde su entrada y por último la Categoría IV: negativa hace referencia aquellas explotaciones sin evidencia de exposición ni circulación cuando una población representativa es tomada (mínimo 30 muestras de sangre tomadas al azar de cerdas adultas) (Holtkamp et al., 2011).

Además de esta vigilancia habitual basada como hemos explicado en resultados diagnósticos periódicos que indican la presencia o ausencia de PRRSV en el grupo, debemos realizar una vigilancia de contingencia ante cualquier cambio clínico en la explotación asignando recursos si son precisos en cada momento.

Fase 3. Evaluar los riesgos del sistema

En un programa de control de PRRS es importante realizar una evaluación objetiva de las capacidades y limitaciones del sistema de producción. Las limitaciones a las que denominaremos riesgos del sistema las podemos dividir en riesgos externos y riesgos internos.

Los riesgos externos son todos aquellos que pueden facilitar la entrada de un nuevo aislado de PRRSV en la explotación. La bioseguridad externa la podemos definir como todas las medidas encaminadas a reducir o minimizar esos riesgos externos. Dentro de estos riesgos externos debemos destacar la importancia del semen y la reposición. Cualquier proyecto que no tenga la certeza diagnóstica constante de que introduce semen y reposición negativa a virus de campo tiene ciertamente complicado mantener una estabilidad duradera, si esta se consiguiera. Existen muchos otros riesgos que deben valorarse como pueden ser el transporte de animales y pienso a la explotación, la ubicación de la misma etc.

Los riesgos internos son todos aquellos que pueden diseminar el aislado de PRRSV que tenemos en la granja. La bioseguridad interna son todas las medidas encaminadas a reducir o minimizar los riesgos internos. El manejo, el flujo de animales y el número de edades de los mismos es fundamental para reducir en tiempo y en intensidad el coste de la enfermedad en una explotación. Dentro de esta aproximación de las 5 fases se generaron junto a la Universidad de Iowa State programas de medición del riesgo, como es el caso del Production Animal Disease Risk Assessment Program (PADRAP) (Mon-

daca et al., 2014). Esta herramienta, se basa en una encuesta para granja de madres con 31 preguntas sobre riesgos internos y 124 preguntas sobre riesgos externos. La representación gráfica de la bioseguridad de manera numérica y comparada con granjas de todo el mundo da lugar, en muchas ocasiones, a tener que redefinir el objetivo del proyecto, si la inversión en bioseguridad no va a ser alta. Ayuda además a determinar qué acciones tendrían un impacto en la reducción del riesgo de manera más rentable, haciendo simulaciones en el programa de mejoras en la bioseguridad planteadas en la granja.

Fase 4. Desarrollar soluciones de control

Las soluciones deben tener el objetivo de prevenir infecciones, maximizar la inmunidad y reducir la exposición.

4.1. Para prevenir infecciones, la bioseguridad externa debe ser reforzada, en este apartado y en función de lo evaluado en la fase 3, se implementarán las medidas en este sentido. Principalmente deben ser evaluadas por la gerencia ya que casi siempre implican una inversión económica. Algunos ejemplos serían cambio a proveedores que acrediten negatividad en cuanto a cerdas de reposición o compra de abuelas y bisabuelas para cerrado de granja (progreso genético vendría únicamente por entrada de semen), compra de dosis de semen de centros con muestreos negativos a PRRS en cada extracción, construcción de nuevas infraestructuras como cargaderos externos, delimitación de zona limpia - zona sucia en las entradas a las granjas, construcción de cuarentenas mayores para reducir el número de entradas de reposición al año, cambio de logística de los camiones de transporte de animales para reducir el riesgo de contaminación por esta vía, paso de recogida de cadáveres a hidrólisis o incineración de los mismos.

4.2. Para maximizar la inmunidad el uso de vacunas MLV ha demostrado ser rentable

y consigue estabilidad de las granjas que las usan. Esta estabilidad también puede obtenerse mediante la infección deliberada con el virus circulante de toda la granja de madres. Estas prácticas permitidas en USA no lo son en Europa. Además, se ha demostrado una ventaja a favor del uso de MLV *versus* el uso de virus de campo en cuanto a producción de lechones cuando se intenta la estabilización de las granjas de reproductoras tras un brote de la enfermedad (Linhares et al., 2014). En este sentido el uso de la vacunación de madres cada 3 o 4 meses con entrada de reposición vacunada y revacunada ha demostrado mejora en casi todos los parámetros reproductivos y de viremia cuando se comparan granjas positivas vacunas y no vacunadas (Olanratmanee et al., 2014; Kroll et al., 2018). La vacunación de lechones (alrededor de la fecha de destete) por su parte, ha demostrado la reducción de la excreción y por tanto de la cantidad de virus en la población en animales previamente infectados o no, y vacunados (efecto indirecto de la vacunación) (Cano et al., 2007; Linhares et al., 2012; Rose et al., 2015). La vacunación de lechones también ha demostrado la mejora de parámetros productivos y reducción de lesiones pulmonares asociadas a PRRS en diferentes trabajos científicos (efecto directo de la vacunación) soportando además la idea de la vacunación completa para reducir las subpoblaciones en granjas o en áreas (Cano et al., 2016; Pileri et al., 2017; Kroll et al., 2018).

4.3. Por otra parte, para reducir la exposición del virus debemos implementar medidas de bioseguridad interna para limitar la diseminación del virus residente. El éxito a corto plazo del proyecto depende de este trabajo, que recae sobre los trabajadores de la granja. Para implementar las medidas consensuadas en la fase 3 es recomendable organizar jornadas de formación de los trabajadores para explicar no solo las medidas sino el porqué de las mismas. Solo de esta manera llegaran a implantarse de manera efectiva. Todas estas medidas que podemos denominar de manejo las dividimos en manejo

de cerdas y núlparas, manejo y movimiento de lechones (McCAW 2000) y movimiento de personas.

Fase 5. Monitorización y seguimiento

La implementación como hemos visto en el apartado anterior es un proceso de comunicación activo porque hay muchas personas que tienen distintos cometidos en una granja o sistema que pueden verse afectadas por el plan o el posible cambio. Por ello, es esencial contar con un plan de comunicación que tenga en cuenta todas las funciones, incluyendo unas expectativas explícitas del programa, indicaciones de administración y el calendario de cambios en los procesos para poder realizar un seguimiento efectivo del proyecto. Es importante definir, como vimos en la fase 1 herramientas estandarizadas para supervisar los avances y deben enfocarse como KPI y objetivos sanitarios y son estos sobre los que realizaremos la monitorización.

La supervisión de un programa tiene dos componentes: 1) supervisión de la implementación prevista del programa: incluye la comprobación de aplicación del esquema vacunal, implementación de medidas en el plano de bioseguridad y 2) supervisión de la eficacia del programa (KPI), tiene que incluir la información a analizar y la forma que debe adoptar (tablas, cuadros o gráficos). Puede contener parámetros de rendimiento del grupo al cierre del programa, observación de signos clínicos e información diagnóstica procedente del muestreo pasivo o activo. Esta información, sirve para saber cómo está funcionando un programa respecto a las expectativas definidas. Además, todos los resultados positivos por PCR de la fase 2 se deberían secuenciar al menos en su marco abierto de lectura 5 (zona de mayor variabilidad del virus). Con estas secuencias podemos determinar mediante la utilización del programa BioPortal (ucdavis.edu) la homología de los aislados del sistema y así monitorizar

si el virus circulante es el residente u otro de nueva introducción. De producirse una introducción lateral de virus nos estaría indicando un fallo en nuestra bioseguridad externa.

La evaluación del éxito del objetivo del proyecto lo definimos en los KPIs. Para la evaluación de los mismos utilizamos el control estadístico de procesos, que fue descrito por primera vez por el Dr. Shewhart para controlar la calidad de procesos de producción industrial en los años 20-30 y concluyó que, aunque todo proceso muestra variación, algunos procesos muestran variación controlada, que es natural al proceso, mientras que otros muestran variación sin control (Shewhart, 1931; Shewhart, 1939). El objetivo es diferenciar causas especiales, de las comunes de variación en un punto determinado en los KPI que determinamos como objetivos. Con ello podríamos definir cuando un parámetro dentro de un grupo de individuos está controlado (la variación debida a causas comunes) o no y por tanto debe ser abordado. Estos conceptos que fueron introducidos por Shewhart y desarrollado por Deming en procesos industriales han sido implementados con éxito en procesos de control de PRRSV dentro de las 5 fases. Así, además de evaluar las medias de los KPI's se evalúa su variabilidad, viéndose reducida esta cuando el parámetro está controlado. Por último, una de las partes más importantes de los proyectos de PRRS es la evaluación del Retorno de la Inversión (ROI). Para este apartado Boehringer Ingelheim ha desarrollado una herramienta de simulación llamada BECAL. Permite hacer un análisis económico de las intervenciones sanitarias en las granjas de porcino, al calcular fácilmente el ROI en función de los datos productivos.

CONCLUSIÓN

El PRRSV ha provocado innumerables trastornos económicos, productivos y emocionales en la industria porcina mundial. La utilización de las vacunas debe ser considerada una herra-

mienta y no la solución al control de la enfermedad. La aproximación holística al problema con el compromiso claro en la mejora integral de la bioseguridad y la concurrencia de todos los implicados en el control de la enfermedad se ha demostrado como la mejor manera de luchar contra PRRSV. Por ello, la plataforma de las 5 fases hace un abordaje integral y eficiente de recursos y de las herramientas a nuestra disposición a día de hoy apoyándose en el método científico para mejorar en los sistemas de producción porcina a nivel mundial.

REFERENCIAS

- Albina, E., Madec, F., Cariolet, R., & Torrison, J. (1994). Immune response and persistence of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus in infected pigs and farm units. *The Veterinary Record*, 134(22), 567-573.
- Allende, R., Kutish, G., Laegreid, W., et al. (2000). Mutations in the genome of porcine reproductive and respiratory syndrome virus responsible for the attenuation phenotype. *Archives of virology*, 145(6), 1149-1161.
- Ansari, I. H., Kwon, B., Osorio, F. A., & Pattnaik, A. K. (2006). Influence of N-linked glycosylation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 on virus infectivity, antigenicity, and ability to induce neutralizing antibodies. *Journal of virology*, 80(8), 3994-4004.
- Baron, T., Albina, E., Leforban, Y., Madec, F., Guilmoto, H., Duran, J. P., & Vannier, P. (1992). Report on the first outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 23(2), 161-166.
- Baumann, A., Mateu, E., Murtaugh, M. P., & Summerfield, A. (2013). Impact of genotype 1 and 2 of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses on interferon- α responses by plasmacytoid dendritic cells. *Veterinary Research*, 44(1), 1-10.

- Benfield, D. (1999). Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Disease of swine. Veterinary pathology*, 35(1), 201-232.
- Benfield, D. A., Nelson, E., Collins, J. E., Harris, L., et al. (1992). Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 4(2), 127-133.
- Bilodeau, R., Dea, S., Sauvageau, R., & Martineau, G. (1991). 'Porcine reproductive and respiratory syndrome in Quebec. *The Veterinary Record*, 129(5), 102.
- Bioportal. Disease BioPortal. <http://cadms.ucdavis.edu/>
- Canelli, E., Catella, A., Borghetti, P., et al. (2017). Phenotypic characterization of a highly pathogenic Italian porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) type 1 subtype 1 isolate in experimentally infected pigs. *Veterinary Microbiology*, 210, 124-133.
- Cano, J., Dee, S., Murtaugh, M. & Pijoan C. (2007). Impact of a modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine intervention on a population of pigs infected with a heterologous isolate. *Vaccine*. 25(22):4382-91.
- Cano J.P. (2012). Introducción, diseminación y perpetuación del virus de PRRS en una región. https://www.3tres3.com/articulos/introduccion-diseminacion-y-perpetuacion-del-virus-prrs-en-una-region_31788/.
- Cano, G., Cavalcanti, M., Orveillon, F. et al. (2016). Production results from piglets vaccinated in a field study in Spain with a Type 1 Porcine Respiratory and Reproductive virus modified live vaccine. *Porcine Health Management* Oct 1;2:22.
- Cavanagh, D. (1997). Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Archives of virology*, 142(3), 629-633.
- Corzo, C. A., Mondaca, E., Wayne, S., Torremorell, M., Dee, S., Davies, P., & Morrison, R. B. (2010). Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus research*, 154(1-2), 185-192.
- Costers, S., Delputte, P. L., & Nauwynck, H. J. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected alveolar macrophages contain no detectable levels of viral proteins in their plasma membrane and are protected against antibody-dependent, complement-mediated cell lysis. *Journal of General Virology*, 87(8), 2341-2351.
- Costers, S., Lefebvre, D. J., Goddeeris, B., Delputte, P. L., & Nauwynck, H. J. (2009). Functional impairment of PRRSV-specific peripheral CD3⁺ CD8^{high} cells. *Veterinary Research*, 40(5), 1-15.
- Chang, C. (1993). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Taiwan. I. Viral isolation. *Journal Chinese Society Veterinary Science*, 19, 268-276.
- Chen, Z., Lawson, S., Sun, Z., et al. (2010). Identification of two auto-cleavage products of nonstructural protein 1 (nsp1) in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infected cells: nsp1 function as interferon antagonist. *Virology*, 398(1), 87-97.
- Chen, J., Wang, H., Bai, J. et al. (2019). Generation of Pigs Resistant to Highly Pathogenic-Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus through Gene Editing of CD163. *International Journal Biology Science*, 15(2), 481-492.
- Chen, N., Xiao, Y., Ye, M., Li, X., et al. (2020). High genetic diversity of Chinese porcine reproductive and respiratory syndrome viruses from 2016 to 2019. *Research in Veterinary Science*, 131, 38-42.
- Cho, J. G., & Dee, S. A. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology*, 66(3), 655-662.
- Christianson, W., Collins, J., Benfield, D., et al. (1992). Experimental reproduction of swine infertility and respiratory syndrome in pregnant sows. *American journal of veterinary research*, 53(4), 485-488.

- Das, P. B., Dinh, P. X., Ansari, I. H., De Lima, M., Osorio, F. A., & Pattnaik, A. K. (2010). The minor envelope glycoproteins GP2a and GP4 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus interact with the receptor CD163. *Journal of virology*, 84(4), 1731-1740.
- Dea, S., Sawyer, N., Alain, R., & Athanassious, R. (1995). Ultrastructural characteristics and morphogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus propagated in the highly permissive MARC-145 cell clone. In Clone. In: Talbot P.J., Levy G.A. (eds), *Corona- and Related Viruses. Advances in Experimental Medicine and Biology*, (95-98). Boston, MA: Springer.
- Dee, S. (1992). Investigation of a nationwide outbreak of SIRS using a telephone survey. *American Association of Swine Practitioners Newsletter*, 4, 41-44.
- Dee, S., Otake, S., & Deen, J. (2011). An evaluation of ultraviolet light (UV254) as a means to inactivate porcine reproductive and respiratory syndrome virus on common farm surfaces and materials. *Veterinary microbiology*, 150(1-2), 96-99.
- Desrosiers, R., & Boutin, M. (2002). An attempt to eradicate porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) after an outbreak in a breeding herd: eradication strategy and persistence of antibody titers in sows. *Journal of Swine Health and Production*, 10(1), 23-25.
- Díaz, I., Darwich, L., Pappaterra, G., Pujols, J., & Mateu, E. (2005). Immune responses of pigs after experimental infection with a European strain of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology*, 86(7), 1943-1951.
- Díaz, I., Gimeno, M., Darwich, L., et al. (2012). Characterization of homologous and heterologous adaptive immune responses in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Veterinary Research*, 43(1), 30.
- Duan, X., Nauwynck, H., & Pensaert, M. (1997). Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Veterinary microbiology*, 56(1-2), 9-19.
- Ellingson, J. S. (2013). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: Diagnostic update and search for novel modified live vaccines. Graduate Theses and Dissertations. 13006. <https://doi.org/10.31274/etd-180810-3363>
- García-Nicolás, O., Baumann, A., Vielle, N. J., Gómez-Laguna, J., et al. (2014). Virulence and genotype-associated infectivity of interferon-treated macrophages by porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Virus Research*, 179, 204-211.
- Halbur, P., Paul, P., Frey, M., et al. (1996). Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Veterinary pathology*, 33(2), 159-170.
- Halbur, P., Paul, P., Frey, M., et al. (1995). Comparison of the pathogenicity of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Veterinary pathology*, 32(6), 648-660.
- Hermann, J., Muñoz-Zanzi, C. A., Roof, M., Burkhart, K., & Zimmerman, J. (2005). Probability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection as a function of exposure route and dose. *Veterinary Microbiology*, 110(1-2), 7-16.
- Hoffmann, E., Mahmood, K., Chen, Z., et al. (2005). Multiple gene segments control the temperature sensitivity and attenuation phenotypes of ca B/Ann Arbor/1/66. *Journal of virology*, 79(17), 11014-11021.
- Holtkamp DJ, Polson DD, Torremorell M, et al., (2011). Terminology for classifying swine herds by porcine reproductive and

- respiratory syndrome virus status. *Journal Swine Health Production*;19(1):44–56
- Hopper, S., White, M., & Twiddy, N. (1992). An outbreak of blue-eared pig disease (porcine reproductive and respiratory syndrome) in four pig herds in Great Britain. *The Veterinary Record*, 131(7), 140-144.
- ISixSigma (2020). Six Sigma DMAIC Roadmap. <https://www.isixsigma.com/new-to-six-sigma/dmaic/six-sigma-dmaic-roadmap/>.
- Kappes, M. A., & Faaberg, K. S. (2015). PRRSV structure, replication and recombination: origin of phenotype and genotype diversity. *Virology*, 479, 475-486.
- Karniychuk, U. U., Geldhof, M., Vanhee, M., Van Doorsselaere, J., Saveleva, T. A., & Nauwynck, H. J. (2010). Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *BMC Veterinary Research*, 6(1), 30.
- Knox, R. V. (2014). Impact of swine reproductive technologies on pig and global food production Current and future reproductive technologies and world food production. *Springer*, 752, 131-160.
- Kuhn, J. H., Lauck, M., Bailey, A. L., et al. (2016). Reorganization and expansion of the nidoviral family Arteriviridae. *Archives of virology*, 161(3), 755-768.
- Kroll, J., Piontkowski, M., Rathkjen, P.H. et al. (2018). Long duration of immunity against a type 1 heterologous PRRS virus challenge in pigs immunised with a novel PRRS MLV vaccine: a randomised controlled study. *Porcine Health Management* 4, 11.
- Lager, K. M., & Mengeling, W. L. (1995). Pathogenesis of in utero infection in porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 59(3), 187.
- Lee, S.-M., & Kleiboeker, S. B. (2007). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces apoptosis through a mitochondria-mediated pathway. *Virology*, 365(2), 419-434.
- Linhares DC., Cano JP., Torremorell M. & Morrison, R. (2014). Comparison of time to PRRSV-stability and production losses between two exposure programs to control PRRSV in sow herds. *Prevention Veterinary Medicine*, 116(1-2):111-9.
- Linhares, D., Cano, J., Wetzell, T. et al. (2012). Effect of modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) vaccine on the shedding of wild-type virus from an infected population of growing pigs. *Vaccine*. 5;30(2):407-13.
- Loemba, H., Mounir, S., Mardassi, H., Archambault, D., & Dea, S. (1996). Kinetics of humoral immune response to the major structural proteins of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Archives of Virology*, 141(3-4), 751-761.
- Loving, C., Osorio, F., Murtaugh, M. & Zuckermann, F. (2015). Innate and adaptive immunity against PRRSV. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 167:1–14.
- Lunney, J. K., Benfield, D. A., & Rowland, R. R. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: an update on an emerging and re-emerging viral disease of swine. *Virus Research*, 154(1-2), 1-6.
- Mardassi, H., Mounir, S., & Dea, S. (1995). Molecular analysis of the ORFs 3 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, Quebec reference strain. *Archives of virology*, 140(8), 1405-1418.
- McCaw M. B. (2000). Effect of reducing cross-fostering at birth on piglet mortality and performance during an acute outbreak of porcine reproductive and respiratory syndrome. *Swine Health Production*; 8(1):15-21
- Meier, W. A., Galeota, J., Osorio, F. A., Husmann, R. J., Schnitzlein, W. M., & Zuckermann, F. A. (2003). Gradual development of the interferon- γ response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. *Virology*, 309(1), 18-31.

- Meng, X. (2000). Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Veterinary Microbiology*, 74(4), 309-329.
- Mengeling, W. L., Vorwald, A. C., Lager, K. M., & Brockmeier, S. L. (1996). Diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome using infected alveolar macrophages collected from live pigs. *Veterinary Microbiology*, 49(1-2), 105-115.
- Mondaca, E., Batista, L., Cano, J.-P., Díaz, E., Philips, R., & Polson, D. (2014). General guidelines for porcine reproductive and respiratory syndrome regional control and elimination projects. *Journal of Swine Health and Production*, 22(2), 84-88.
- Morgan, S.B., Graham, S.P., Salguero, F.J., et al. (2013). Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance. *Veterinary Microbiology*, 163(1-2), 13-22.
- Mortensen, S., Stryhn, H., Søgaaard, R., Boklund, A., Stärk, K. D., Christensen, J., & Willeberg, P. (2002). Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Preventive Veterinary Medicine*, 53(1-2), 83-101.
- Murakami, Y., Kato, A., Tsuda, T., Morozumi, T., Miura, Y., & Sugimura, T. (1994). Isolation and serological characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses from pigs with reproductive and respiratory disorders in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 56(5), 891-894.
- Murtaugh, M. (2009). Update on PRRSV immunology and viral genetics: from hopeless to hopeful. In *American Association Of Swine Veterinarians (Eds.), Proceedings of the 40th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinary*, (459-462). Dallas, American Association Of Swine Veterinarians.
- Olanratmanee EO., Thanawongnuwech, R., Kunavongkrit, A., & Tummaruk, P. (2014). Reproductive performance of sows with and without PRRS modified live virus vaccination in PRRS-virus-seropositive herds. *Tropical Animal Health and Production*, 46(6):1001-7.
- Kroll, J., Piontkowski, M., Kraft, C., Coll, T., & Gomez-Duran, O. (2018). Initial vaccination and revaccination with Type I PRRS 94881 MLV reduces viral load and infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Porcine Health Management* 20; 4:23.
- Osorio, F. A., Galeota, J., Nelson, E., et al. (2002). Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity. *Virology*, 302(1), 9-20.
- Ostrowski, M., Galeota, J., Jar, A., Platt, K., Osorio, F. A., & Lopez, O. (2002). Identification of neutralizing and nonneutralizing epitopes in the porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 ectodomain. *Journal of Virology*, 76(9), 4241-4250.
- Otake, S., Dee, S. A., Moon, R. D., Rossow, K. D., Trincado, C., Farnham, M., & Pijoan, C. (2003). Survival of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in houseflies. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 67(3), 198.
- Otake, S., Dee, S. A., Rossow, K. D., Moon, R. D., & Pijoan, C. (2002). Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Canadian Journal of Veterinary Research*, 66(3), 191.
- Pesch, S., Meyer, C., & Ohlinger, V. (2005). New insights into the genetic diversity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Veterinary Microbiology*, 107(1-2), 31-48.

- Pileri, E., Gibert, E., Martín-Valls, G., et al. (2017). Transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus 1 to and from vaccinated pigs in a one-to-one model. *Veterinary Microbiology*, 201, 18-25.
- Plana, J., Vayreda, M., Vilarrasa, J., et al. (1992). Porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease). Isolation in Spain of the causative agent and experimental reproduction of the disease. *Veterinary Microbiology*, 33(1-4), 203-211.
- Prieto, C., Garcí'a, C., Simarro, I., & Castro, J. M. (2003). Temporal localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in reproductive tissues of experimentally infected boars. *Theriogenology*, 60(8), 1505-1514.
- Rahe, M. C., & Murtaugh, M. P. (2017). Mechanisms of adaptive immunity to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viruses*, 9(6), 148.
- Ramírez, A. (2015). *Guía del PRRS: síndrome reproductivo y respiratorio porcino*. Zaragoza: Grupo Asís Biomedica SL.
- Rathkjen, P.H. and Dall, J., (2018). Maximising the Chances of Success for PRRSV Area-Regional Control and Elimination Programmes: A 5-Step Process in Practice. *Microb Biochem Technol.*, 10:1
- Renson, P., Touzain, F., Lebret, A., Le Dimna, M., Quenault, H., Normand, V., Claude, J.-B., Pez, F., Rose, N., Blanchard, Y., Bourry, O., (2017). Complete genome sequence of a recombinant porcine reproductive and respiratory syndrome virus strain from two genotype 1 modified live virus vaccine strains. *Genome announcements*, 5(22), e00454-17.
- Rodríguez-Gómez, I., Sánchez-Carvajal, J.M., Pallarés, F. J., Mateu, E., Carrasco, L. & Gómez-Laguna, J., (2019). Virulent Lena strain induced an earlier and stronger down-regulation of CD163 in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Microbiology*, 235, 101-109
- Rose, N., Renson, P., Andraud, M., Paboeuf, F., Le Potier, M., & Bourry, O. (2015). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) modified-live vaccine reduces virus transmission in experimental conditions. *Vaccine*, 33(21), 2493-2499.
- Rossow, K. D., Bautista, E. M., Goyal, S. M., et al. (1994). Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one-, four-, and 10-week-old pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6(1), 3-12.
- Scortti, M., Prieto, C., Alvarez, E., Simarro, I., & Castro, J. (2007). Failure of an inactivated vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome to protect gilts against a heterologous challenge with PRRSV. *Veterinary Record*, 161(24), 809-813.
- Scortti, M., Prieto, C., Simarro, I., & Castro, J. M. (2006). Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology*, 66(8), 1884-1893.
- Schulze, M., Revilla-Fernández, S., Schmolli, F., Grossfeld, R., & Griessler, A. (2013). Effects on boar semen quality after infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a case report. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 16.
- Shabir, N., Khatun, A., Nazki, S., et al. (2016). Evaluation of the cross-protective efficacy of a chimeric porcine reproductive and respiratory syndrome virus constructed based on two field strains. *Viruses*, 8(8), 240.
- Shewhart, W. A. (1931). *Economic control of quality of manufactured product*. London: Macmillan And Co Ltd.
- Shewhart, W. A. (1939). Statistical method from the viewpoint of Quality Control. *Nature*, 156, 150.
- Shi, C., Liu, Y., Ding, Y., Zhang, Y., & Zhang, J. (2015). PRRSV receptors and their roles in virus infection. *Archives of Microbiology*, 197(4), 503-512.

- Shirai, J., Kanno, T., Tsuchiya, Y., Mitsubayashi, S., & Seki, R. (2000). Effects of chlorine, iodine, and quaternary ammonium compound disinfectants on several exotic disease viruses. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(1), 85-92.
- Sinha, A., Shen, H., Schalk, S., et al. (2011). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) influences infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) subtypes PCV2a and PCV2b by prolonging PCV2 viremia and shedding. *Veterinary microbiology*, 152(3-4), 235-246.
- Sinn L.J., Klingler E., Lamp B., Brunthaler R., Weissenböck H., Rumenapf T., Ladinig A. (2016). Emergence of a virulent Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) 1 strain in Lower Austria. *Porcine Health Management*. 2, 28.
- Stadejek, T., Oleksiewicz, M., Potapchuk, D., & Podgorska, K. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *Journal of General Virology*, 87(7), 1835-1841.
- Stadejek, T., Larsen, L.E., Podgórska, K., et al. (2017). Pathogenicity of three genetically diverse strains of PRRSV Type 1 in specific pathogen free pigs. *Veterinary Microbiology*, 209, 13-19.
- Stadejek, T., Stankevicius, A., Murtaugh, M.P., Oleksiewicz, M.B. (2013). Molecular evolution of PRRSV in Europe: current state of play. *Veterinary Microbiology*, 165, 21-28.
- Stadejek, T., Oleksiewicz, M.B., Scherbakov, A.V., Timina, A.M., Krabbe, J.S., Chabros, K., Potapchuk, D. (2008). Definition of subtypes in the European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristics and geographical distribution in Europe. *Archives Virology*, 153(8), 1479-1488.
- Stadejek, T., Oleksiewicz, M.B., Potapchuk, D., Podgorska, K. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *Journal of General Virology*, 87, 1835-1841.
- Steverink, P., Pol, J., Bos-de Ruijter, J., & Meulenbergh, J. (2000). Virulence of vABV 414, the virus derived from the infectious cDNA clone of the Lelystad virus, for third trimester pregnant gilts. *Veterinary Research*, 31(1), 59-60.
- Stoian, A. M., & Rowland, R. R. (2019). Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) vaccine design: reviewing virus glycoprotein interactions with CD163 and targets of virus neutralization. *Veterinary Sciences*, 6(1), 9.
- Sun, Y., Han, M., Kim, C., Calvert, J. G., & Yoo, D. (2012). Interplay between interferon-mediated innate immunity and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viruses*, 4(4), 424-446.
- Suradhat, S., Thanawongnuwech, R., & Poovorawan, Y. (2003). Upregulation of IL-10 gene expression in porcine peripheral blood mononuclear cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology*, 84(2), 453-459.
- Thaa, B., Sinhadri, B. C., Tiesch, C., Krause, E., & Veit, M. (2013). Signal peptide cleavage from GP5 of PRRSV: a minor fraction of molecules retains the decoy epitope, a presumed molecular cause for viral persistence. *PLoS One*, 8(6), e65548.
- Tian K, Yu X, Zhao T, Feng Y, Cao Z, Wang C, et al. (2007). Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark. *PLoS ONE* 2(6): e526.
- Valdes-Donoso, P., Jarvis, L. S., Wright, D., Alvarez, J., & Perez, A. M. (2016). Measuring progress on the control of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) at a regional level: the minnesota N212 regional control project (Rcp) as a working example. *PLoS one*, 11(2), e0149498.

- Van Gucht, S., Labarque, G., & Van Reeth, K. (2004). The combination of PRRS virus and bacterial endotoxin as a model for multifactorial respiratory disease in pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102(3), 165-178.
- Vanhee, M., Costers, S., Van Breedam, W., Geldhof, M. F., Van Doorselaere, J., & Nauwynck, H. J. (2010). A variable region in GP4 of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces neutralizing antibodies against homologous but not heterologous virus strains. *Viral Immunology*, 23(4), 403-413.
- Velasova, M., Alarcon, P., Williamson, S., & Wieland, B. (2012). Risk factors for porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection and resulting challenges for effective disease surveillance. *BMC veterinary research*, 8(1), 184.
- Vincent, A. L., Thacker, B. J., Halbur, P. G., Rothschild, M. F., & Thacker, E. L. (2006). An investigation of susceptibility to porcine reproductive and respiratory syndrome virus between two genetically diverse commercial lines of pigs. *Journal of Animal Science*, 84(1), 49-57.
- Wang, X., Marthaler, D., Rovira, A., Rossow, S., & Murtaugh, M. P. (2015). Emergence of a virulent porcine reproductive and respiratory syndrome virus in vaccinated herds in the United States. *Virus Research*, 210, 34-41.
- Wang, Y., Liang, Y., Han, J., Burkhart, K. M., Vaughn, E. M., Roof, M. B., & Faaberg, K. S. (2008). Attenuation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus strain MN184 using chimeric construction with vaccine sequence. *Virology*, 371(2), 418-429.
- Welch, S.-K. W., & Calvert, J. G. (2010). A brief review of CD163 and its role in PRRSV infection. *Virus Research*, 154(1-2), 98-103.
- Wells, K. D., & Prather, R. S. (2017). Genome editing technologies to improve research, reproduction, and production in pigs. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 1012-1017.
- Wensvoort, G. (1993). Lelystad virus and the porcine epidemic abortion and respiratory syndrome. *Veterinary Research*; 24(2):117-24.
- Whitworth K. and Prather, R., (2017). Gene editing as applied to prevention of reproductive porcine reproductive and respiratory syndrome. *Molecular Reproduction and Development*, 9999, 1-8.
- Wills, R. W., Doster, A. R., Galeota, J. A., Sur, J.-H., & Osorio, F. A. (2003). Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1), 58-62.
- Yoon, J., Joo, H. S., Goyal, S. M., & Molitor, T. W. (1994). A modified serum neutralization test for the detection of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine sera. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6(3), 289-292.
- Yoon, S. H., Kim, H., Park, B., & Kim, H. (2012). Tracing the genetic history of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses derived from the complete ORF 5-7 sequences: a Bayesian coalescent approach. *Archives of Virology*, 157(11), 2143-2151.
- Zhang, J., Chai, J., Luo, Z., He, H., Chen, L., Liu, X., & Zhou, Q. (2018). Meat and nutritional quality comparison of purebred and crossbred pigs. *Animal Science Journal*, 89(1), 202-210.
- Zhang, Q., & Yoo, D. (2015). PRRS virus receptors and their role for pathogenesis. *Veterinary Microbiology*, 177(3-4), 229-241.
- Zimmerman, J., Yoon, K.-J., Pirtle, E., Wills, R., Sanderson, T., & McGinley, M. (1997). Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Veterinary Microbiology*, 55(1-4), 329-336.

- Zuckermann, F. A., Garcia, E. A., Luque, I. D., Christopher-Hennings, J., Doster, A., Brito, M., & Osorio, F. (2007). Assessment of the efficacy of commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines based on measurement of serologic response, frequency of gamma-IFN-producing cells and virological parameters of protection upon challenge. *Veterinary Microbiology*, 123(1-3), 69-85.