

## Noves troballes sobre la SRRP

**05/2007 - Ciència Animal.** La Síndrome Reproductiva i Respiratòria Porcina (SRRP), una malaltia respiratòria amb greus conseqüències per a la producció porcina mundial, ha estat objecte d'estudi d'una tesi realitzada per un investigador del CReSA i de la UAB. Els resultats obtinguts han demostrat que la resposta immunològica dels garrins després de la infecció amb una soca virulenta de la SRRP és pràcticament igual a la que es desenvolupa després de la vacunació amb soques atenuades. La rellevància d'aquests resultats l'han fet mereixedora del Premi Syva 2007, que s'atorga a la millor tesi doctoral en Sanitat Animal d'Espanya, Portugal i Mèxic.



La Síndrome Reproductiva i Respiratòria Porcina (SRRP) és una malaltia del porc que es caracteritza per provocar problemes respiratoris en els animals joves i quadres reproductius en les femelles gestants. Va ser descrita per primera vegada als Estats Units a la fi de la dècada de 1980 i actualment es considera una malaltia d'extensió mundial. Des de la seva aparició, la SRRP ha provocat un enorme impacte en la producció porcina mundial; estudis recents estimen que només als Estats Units les pèrdues per costos directes ascendeixen a més de 550 milions de dòlars anuals.

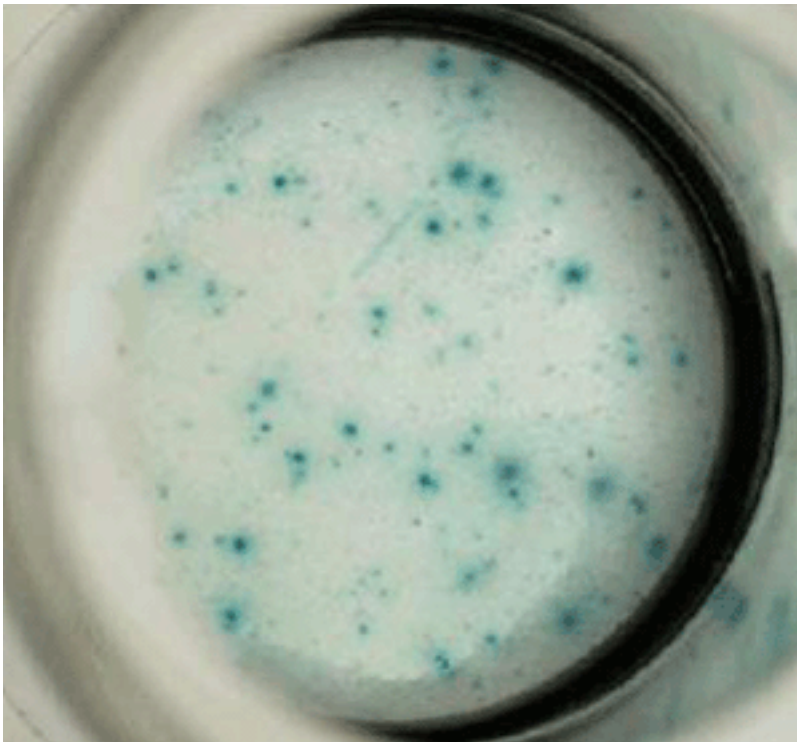
L'agent etiològic d'aquesta malaltia és conegut com a virus de la SRRP (vSRRP) o arterivirus porcí. És un virus RNA del qual s'han descrit dos genotips, l'americà i l'uropeu. La similitud en algunes de les ORFs (*Open Reading Frames* o fragments de lectura oberta) que els componen no supera el 60%. Existeix, a més, una elevada variabilitat genètica dins de cada genotip. Aquesta variabilitat es considera com un factor limitant en l'obtenció d'una protecció universal enfront de reinfeccions.

A causa de les greus conseqüències que implica la SRRP, es comercialitzen, des de mitjans dels anys noranta, vacunes basades en l'ús, tant de soques del genotip europeu com de l'americà. Els resultats obtinguts amb l'ús d'aquestes vacunes llancen certs dubtes sobre l'eficàcia de les mateixes. Una de les raons més importants per la qual no s'han pogut desenvolupar vacunes més eficients és la falta d'un coneixement profund dels successos immunològics que ocorren després de la infecció/vacunació. Fins ara, la majoria d'aquest tipus d'estudis han estat realitzats usant soques del genotip americà. Amb el propòsit d'aportar noves idees sobre possibles vies de millora de les vacunes actuals, el principal objectiu d'aquesta tesi doctoral ha estat caracteritzar la resposta immune (RI) del porc enfront de soques del vSRRP del genotip europeu (infecció/vacunació). Prèviament a la realització dels estudis que componen la tesi, i amb la intenció de descriure amb major detall la RI del porc, es van estandarditzar diverses tècniques, algunes d'elles inèdites fins al moment en l'espècie porcina (1).

En el primer estudi es va plantejar detallar d'una forma exhaustiva les respostes humoral i cel·lular que desenvolupen els garrins al ser infectats amb una soca de camp europea (2). En el segon estudi, i donada la inexistència d'articles referenciats que comparessin la RI i avaluessin l'eficàcia de vacunes compostes per virus atenuats enfront d'un desafiament homòleg i heteròleg, es van vacunar dos grups de garrins amb vacunes comercials pertanyents al genotip europeu; una molt semblant al virus del desafiament (entre 98.3–99.7% segons ORF analitzada) i altra menys semblant (entre 92.3–98.6% segons ORF analitzada), des d'ara "homòloga" i "heteròloga", respectivament. Transcorreguts dos mesos, els garrins vacunats es van desafiar amb la soca usada en el primer estudi (3).

Les troballes observades després de la infecció de garrins amb una soca europea demostren que la RI és totalment anòmala, caracteritzant-se aquesta per l'absència dels factors claus que haurien de desenvolupar-se per obtenir una protecció eficaç enfront del virus. Després de la infecció es va observar: a) absència de producció de IL-2 i IL-4, b) aparició primerenca

d'anticossos no neutralitzants que podrien estar afavorint la infecció a l'estar associats al fenomen d'increment dependent d'anticossos, c) aparició d'una resposta neutralitzant inconstant i tardana i d) desenvolupament lent i irregular de cèl·lules productores de IFN- $\gamma$  (CP-IFN- $\gamma$ ) específiques de virus. Els resultats obtinguts suggereixen que, en primera instància, el rol que desenvolupen els anticossos neutralitzants durant la infecció ha de considerar-se limitat, ja que aquests no són necessaris per a l'eliminació del virus de la sang. D'altra banda, una de les hipòtesis que plantejarem com explicació a la lenta evolució de la resposta cel·lular és la producció de IL-10 en les primeres fases de la infecció. Aquests resultats, juntament amb els obtinguts amb soques americanes demostren que, a pesar de les diferències genètiques existents entre genotips, la RI que es desenvolupa després de la infecció és pràcticament igual; és a dir, marcada resposta Th2 potent i no resolutiva i evolució lenta i erràtica de la resposta Th1. Tal i com s'ha demostrat amb el virus elevador de la lactato-deshidrogenasa del ratolí, un arterivirus amb característiques molt similars al vSRRP, plantejarem la hipòtesi que potser després de la infecció el paper de la RI pugui ser secundari i l'eliminació del virus depengui més d'altres factors, com per exemple de la dinàmica de poblacions de cèl·lules permissives.



*Resultat de la aplicació de la tècnica de ELISPOT: detecció de cèl·lules productores d'IFN-gamma.*

En el segon estudi els porcs vacunats van presentar períodes de virèmia molt llargs (42 dies). Les llargues virèmies descrites amb ambdues vacunes denoten una situació indesitjable on es possibilita l'excreció del virus i per tant la transmissió i la hipotètica reversió a virulència, fenomen ja descrit amb altres soques d'aquest virus. Respecte a la RI, els anticossos neutralitzants no van aparèixer abans dels 2 mesos post-vacunació (moment del desafiament) i per tant aquest paràmetre no pot relacionar-se amb la protecció atorgada per les vacunes. No obstant això, el paràmetre immune que sí hauria de considerar-se com a marcador de protecció és la freqüència de CP-IFN- $\gamma$ ; només els animals que van assolir una magnitud mínima en el moment del desafiament van quedar protegits, independentment de la vacuna que els va ser administrada. Sorprenentment, la vacuna que va aportar un major grau de protecció va ser la vacuna "heteròloga", induint els majors nivells de CP-IFN- $\gamma$ . La vacuna "homòloga", amb menor capacitat protectora, induïa la producció d'elevades quantitats de IL-10 fins i tot en les cèl·lules control. Per tant, la IL-10 és de nou un dels factors a considerar per poder explicar el retard de la formació de la resposta cel·lular mesurada com producció de IFN- $\gamma$ .

Així doncs, l'evolució de la RI enfront de soques de camp i enfront de vacunes basades en virus atenuat pot considerar-se anòmal, lenta i insuficient. Respecte a les vacunes, vam considerar que els garrins poden estar protegits fins i tot enfront de soques heteròlogues si els nivells de CP-IFN- $\gamma$  induïts són suficients; en alguns casos la lenta i insuficient evolució d'aquests nivells podria estar associada a la producció de IL-10. A causa dels diferents resultats obtinguts, la inducció de la producció de IL-10 ha de considerar-se com un factor dependent de soca. En definitiva, la protecció conferida per una vacuna contra el vSRRP no depèn només de la similitud genètica entre el virus vacunal i la soca del desafiament, sinó que també han de considerar-se les propietats immunològiques inherents a ambdues soques.

En el futur, els estudis immunològics relacionats amb aquesta malaltia haurien de centrar-se en la caracterització de les parts del virus associades a les troballes observades en aquesta tesi. D'aquesta manera, podria plantejar-se la possibilitat de crear una vacuna universal i eficaç que inclogués només aquelles parts del virus que induïen les respostes desitjables (anticossos neutralitzants i CP-IFN- $\gamma$ ) i evités les adverses (IL-10 i anticossos no neutralitzants).

**Referències utilitzades al llarg del text, revisades a:**

Zimmerman J.J., Yoon K.J., et al. The Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Compendium: A comprehensive reference on PRRS for pork producers, veterinary practitioners, and researchers (2nd edition), National Pork Board PRRS, Iowa, 2003.

Mateu E., Díaz I. PRRS UPDATE. Recientes avances sobre la enfermedad. Ed. Merial Laboratorios, Barcelona, 2007.

**Resta referències:**

(1) Díaz I., Mateu E. (2005). Use of ELISPOT and ELISA to evaluate IFN-gamma, IL-10 and IL-4 responses in conventional pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 106, 107-112.

(2) 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*. 86,1943-1951.

(3) Díaz I., Darwich L., Pappaterra G., Pujols J., Mateu E. (2006). Different European-type vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus have different immunological properties and confer different protection to pigs. *Virology*. 351, 249-259.

Ivan Díaz Luque

CRReSA Universitat Autònoma de Barcelona

Tesi: Caracterització de la resposta immune de garrins durant la infecció i després de la vacunació amb el virus de la Síndrome Reproductiva i Respiratòria Porcina. Dirigida pel Dr. Enric Mateu de Antonio i defensada per Ivan Díaz Luque l'11 de setembre de 2006.