



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETECCIÓN DE VIRUS DEL SÍNDROME  
REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO  
(PRRS) EN FÓMITES, VECTORES Y AIRE EN DOS  
GRANJAS INTENSIVAS DE CERDOS DE LA  
REGIÓN METROPOLITANA DE CHILE**

**Valentina Killén Faúndes Arzola**

Proyecto de Memoria para optar al  
Título Profesional de Médico  
Veterinario  
Departamento de Medicina  
Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: DR. VICTOR MANUEL NEIRA RAMÍREZ  
Financiamiento Fondecyt 11170877  
Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE  
2022



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**DETECCIÓN DE VIRUS DEL SÍNDROME  
REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO  
(PRRS) EN FÓMITES, VECTORES Y AIRE EN DOS  
GRANJAS INTENSIVAS DE CERDOS DE LA  
REGIÓN METROPOLITANA DE CHILE**

**Valentina Killén Faúndes Arzola**

Proyecto de Memoria para optar  
al Título Profesional de Médico  
Veterinario  
Departamento de Medicina  
Preventiva Animal

Nota Final: .....

Profesor Guía: Víctor Neira R. ....  
Profesor Corrector: José Pizarro L. ....  
Profesor Corrector: Sergio Bucarey V. ....

FINANCIAMIENTO FONDECYT 11170877

SANTIAGO, CHILE  
2022

## **AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA**

Pensé que en este momento estarían presentes ciertas personas en mi vida. Supongo que me atrasé más de lo que quise, me hubiera gustado celebrar este momento con ustedes, siento que parte de este cierre les pertenece también, gracias por alentarme, creer en mí y mirarme con esa cara de orgullo cada vez que se referían a mi como la “doctora” de la familia, por eso quisiera dedicarles esta tesis a ustedes que ya partieron y enviarles un abrazo a donde sea que vayan las almas después de la muerte.

A mi familia, gracias por estar ahí, por vislumbrar un futuro entre bromas cariñosas (desde ahora quedó obsoleta la pregunta de cuándo me título), por darme apoyo cuando lo necesitaba y por comprender el proceso que estaba viviendo. En especial a mis tíos que solían alimentarme con churrascos para poder sobrevivir el día a día, cuando no alcanzaba a cocinar debido a todas las cosas que debía realizar, o un servirme mi leche de chocolate favorita para animarme y ponernos al día. A mi “tía de Bolivia” que con sus conversaciones me hizo sentir un poco menos extraña y un poco más comprendida. A mi tía y primos que estuvieron ahí en el inicio cuando se me complicaba realizar la inscripción y me regalaron los primeros cuadernos, gracias por estar ahí. Y a mi madre, porque creer en mí más que en nadie y apoyarme independiente del camino que escoja, gracias de corazón.

A mis amigos, aquellos que forman parte de la familia escogida. Gracias por el cariño, la preocupación y el cuidado que tienen conmigo, en especial después del accidente. Dicho esto, gracias Anciana por salvarme la vida, de no ser por ti no estaría escribiendo esto, y lo repetiré hasta el cansancio, gracias. Jo, Nico, Mati, Dante y Grace gracias por leerme y escucharme, por estar ahí cuando ni yo sabía entenderme o como funcionar, la verdad no puedo imaginar una vida sin ustedes. A ti Barb, que te sentaste a explicarme cosas que me costaba interiorizar y contribuiste a que pudiera avanzar en la escritura de esta tesis, tu apoyo y ayuda me aliviaron mucho el camino. Al Felipe, la Belén y la Vale que en cuanto tuve que cambiar la tesis anterior por la pandemia, me ayudaron a conseguir esta, muchas gracias.

Al profesor Víctor Neira que me aceptó como tesista y apoyó este proceso, gracias por su guía y comprensión. Y hablando de las personas de la facultad, quisiera agradecerles a Carlos Camaaño y Katherin Quintana, miembros del CEACS, quienes acudieron a ayudarme cuando no podía avanzar en la tesis, admiro la labor que realizan y espero que sigan contribuyendo a que los, las y les estudiantes puedan empoderarse de su proceso de aprendizaje.

Por último, a ti que llegaste hasta este punto. Gracias por leer, si estás pasando por tu proceso de titulación o estás realizando una investigación, gracias por considerar mi trabajo. Quisiera recordarte que, tú puedes con esto, ¡ánimo!

# Índice

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>7</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>8</b>
Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino.....	8
Importancia económica y situación en Chile .....	9
Vías de contagio del virus .....	10
Mecanismos de detección .....	11
<b>HIPÓTESIS-OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
Diseño muestral y obtención de muestras .....	13
Diagnóstico .....	17
Extracción de ARN .....	17
PCR tiempo real .....	17
Análisis de resultados.....	18
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>19</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>31</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>

## **RESUMEN**

El Síndrome del virus reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV), es una enfermedad que afecta a los porcinos de todas las edades causando pérdidas económicas en los planteles de producción. La transmisión del virus puede generarse por varias vías, lo que incluye partículas aéreas, moscas y fómites. Chile se declaró libre de esta enfermedad ante la OIE en 2012, sin embargo, en 2013 se detecta una nueva cepa en el país, por lo cual se está realizando programa de erradicación y la enfermedad es de denuncia obligatoria ante el SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). Para evaluar la presencia del virus en muestras ambientales (aire, moscas y fómites) y la muestra control (fluido oral), en 2 planteles (Plantel A y B) de la Región Metropolitana positivos al virus durante el verano de 2019, se realizó PCR en tiempo real y las muestras se consideraron positivas con un Ct <40. En el Plantel A, un 69% de las muestras de fluido oral, un 25% de muestras de aire dentro de la sala, un 25% los fómites de reja y suelo, un 75% de las muestras de comedero y puerta fueron positivas. Respecto al Plantel B, un 75% de las muestras de fluido oral, un 20% las de aire fuera de sala, un 25% de las muestras de fómites de suelo y un 8% de las muestras de moscas, resultaron positivas. Para determinar la asociación individual entre las muestras ambientales y la muestra control se realizó el test exacto de Fisher, en la mayoría de los casos se reportaron valores menores a  $P < 0.05$ , solo las muestras de fómites del Plantel A con un  $p 0.14$  indicaron asociación con las muestras de fluido oral, por tanto, podrían tenerse en consideración como una opción de muestreo de la presencia del PRRSV.

**Palabras clave:** PRRS, cerdos de recría, fómites, aire, moscas, detección.

## **ABSTRACT**

The Reproductive and respiratory virus syndrome (PRRSV) is a disease that affects pigs of all ages, causing economical losses in productions facilities. PRRSV can be transmitted by various ways including airborne particles, flies and fomites. Chile declared itself disease free to the OIE in 2012 however in a new strain was detected in the country in 2013 and currently an eradication program is being carried out and it is mandatory to report it to the SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). To evaluate the presence of this virus in environmental samples (air, flies and fomites) and the control simple (oral fluid) in 2 facilities (Plantel A y Plantel B) in the Metropolitan Region that had positive cases in the summer of 2019, which were analyzed by real-time PCR and considered positive at Ct <40. In the Plantel A, a 69% of the oral fluid samples, 25% of the air samples inside the hall, a 25% of the fence and floor fomites and a 75% of feeder and door fomites, were positive. Respect to the Plantel B, 75% of the oral fluid samples, 20% of air outside the hall, 25% of floor fomites and 8% flies samples, were positive. To determinate the individual association between environmental samples and control samples, the Fisher Test were performed, in the majority of the cases values below  $P < 0.05$  were reported, only fomite samples from Plantel A with a p 0.14 indicated association with the oral fluid samples, so they could be considered as a sample option to detect the presence of PRRSV.

**Key words:** PRRS, rearing pigs, fomite, air, flies, detection.

## **INTRODUCCIÓN**

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS, por sus siglas en inglés), es una enfermedad viral no zoonótica que afecta a los cerdos, ocasionando fallas reproductivas severas en cerdas gestantes, disminuyendo la calidad del semen en verracos, y causando problemas respiratorios en cerdos de todas las edades, principalmente en lechones. Por lo tanto, es considerada una de las enfermedades de mayor importancia económica a nivel mundial.

La infección por virus PRRS (PRRSV, por sus siglas en inglés), puede ser subclínica o aguda, dependiendo de diversos factores, entre los que destacan el grado de virulencia de la cepa viral y la presencia de agentes secundarios. El control del PRRSV es complejo y requiere de un conjunto de medidas, las cuales incluyen monitoreo, diagnóstico, bioseguridad, manejo del ganado e inmunización.

El PRRSV fue detectado por primera vez en el país en 1999. En 2012 Chile se autoproclamó ante la OIE como país libre de PRRSV, debido al éxito del programa de erradicación establecido en 2003. Sin embargo, en octubre de 2013 se detectó un nuevo brote, por el cual, desde 2014 en adelante se establece un nuevo programa de erradicación del PRRSV. En la actualidad, el PRRS es una enfermedad de denuncia obligatoria, como lo señala el Decreto 389 Exento (Chile, 2014).

Si bien, la transmisión del virus ha sido atribuida principalmente a los animales de reemplazo y el semen, estudios recientes han evaluado y determinado el potencial de otras fuentes de infección tales como, transporte, insectos y fómites, dentro de los cuales se encuentran botas contaminadas y overoles. Además, puede ser transportado por el aire a través de aerosoles.

Teniendo en consideración lo anterior, esta Memoria de Título se centra en detectar la presencia de PRRSV en fómites (manilla de la puerta de sala, reja de los corales, suelo del corral y comedores), vectores (moscas) y muestras de aire de 2 planteles de producción porcina intensiva positivos al virus, en la Región Metropolitana de Chile.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino

El PRRS, es causado por un virus RNA, envuelto, esférico, monocatenario, de sentido positivo (Cavanagh, 1997), que pertenece al reino *Riboviria*, orden *Nidovirales*, familia *Arteriviridae*, subfamilia *Arminovirinae*, genero *Betaarterivirus*, especie *Betaarterivirus suis* 1 (ICTV, 2020), su tamaño varía en rangos de 45 a 80 nm. en diámetro, y es altamente contagioso (Dietze *et al.*, 2011). El cerdo (*Sus scrofa*), sin importar si es doméstico o feral, es la única especie conocida susceptible naturalmente a este virus, sin embargo, otras especies de jabalíes, pertenecientes la familia *Suidae*, podrían ser susceptibles (OIE, 2008).

Fue descubierto por primera vez en 1987 en USA y en 1990 en Europa, desde entonces se ha expandido a varios países con producciones porcinas intensivas (Albina, 1997). Existen dos genotipos del virus, el europeo o tipo 1 (PRRSV-1) y el norteamericano o tipo 2 (PRRSV-2), ambos presentan una elevada variabilidad genética, biológica y antigénica (Amarilla *et al.*, 2015). Por lo anterior, las vacunas solo se utilizan para disminuir el grado de afección de la enfermedad, ya que existe una escasa homogeneidad y nulo efecto de antigenicidad cruzada (López-Heidek *et al.*, 2015).

El virión (anexo 1), consiste en un núcleo construido por una proteína de nucleocápside, codificada por el marco de lectura abierta (ORF, por sus siglas en inglés) 7, en asociación con el RNA viral (Vanhee *et. al.*, 2011). La nucleocápside está rodeada por una envoltura lipídica en la cual se encuentran incrustadas seis proteínas estructurales: las glicoproteínas GP2 (ORF2a), GP3 (ORF3), GP4 (ORF4) y GP5 (ORF 5), y las proteínas no glicosiladas M (ORF6) y E (ORF2b) (Vanhee *et. al.*, 2011).

Los brotes clínicos (Anexo 1) y los efectos a largo plazo de PRRSV son altamente variables (Holtkamp *et al.*, 2013); sin embargo, tanto en infecciones experimentales como naturales, se han encontrado las siguientes manifestaciones clínicas: anorexia, letargia, falta de lívido, y alteraciones en la calidad del semen, tales como, disminución en la motilidad espermática,

morfoanomalías, gotas citoplasmáticas, y disminución del porcentaje de espermatozoides con acrosoma normal (Pietro y Castro, 2005).

Pulmones y órganos linfoides son los tejidos con mayor carga viral en la fase inicial, pudiendo ser detectado en pulmones un día después de la exposición y permanecer hasta 49 días post exposición en cerdos jóvenes (Pileri y Mateu, 2016).

La supervivencia del virus se ve afectada por el pH y la temperatura ambiental, no obstante, puede sobrevivir largos periodos (4 meses), en temperaturas bajo  $-20^{\circ}\text{C}$ . Sin embargo, a medida que aumenta la temperatura su supervivencia decrece, por ejemplo, a  $4^{\circ}\text{C}$  puede sobrevivir durante un mes, a  $21^{\circ}\text{C}$  sobrevive 6 días, con  $37^{\circ}\text{C}$  sobrevive 1 día y con  $56^{\circ}\text{C}$  solo 20 minutos (Thakur *et al.*, 2015). El virus puede ser inactivado rápidamente utilizando solventes lípidos, calor, secado y, pH bajo 5 y sobre 7 (Pileri y Mateu, 2016).

### **Implicancia económica y situación en Chile**

El PRRS es considerado una de las enfermedades con mayor repercusión económica para los porcicultores en todo el mundo, los brotes de PRRSV ocasionan pérdidas económicas del 10% de la producción animal (López-Heidek *et al.*, 2015). Para calcular el daño económico ocasionado por las pérdidas producidas por la infección del PRRSV, Nathues *et al.*, en 2017 crearon un modelo económico de la enfermedad, con el cual calcularon que las pérdidas anuales oscilaron, en un intervalo, de una mediana de €75'724, si los corrales afectados fueron los de maternidad y engorda, a una mediana de €650'090 si la granja fue severamente afectada en todas las etapas de producción.

El impacto económico del PRRSV en crianza y parto, se debe mayoritariamente, a la disminución del número de lechones destetados y el deterioro en las tasas de parto (Pileri y Mateu, 2016). En los cerdos en crecimiento; puede aumentar las infecciones secundarias y tasas de mortalidad, además de provocar un retraso en el crecimiento, alta dispersión en pesos a la edad de sacrificio y aumento en el uso de antimicrobianos (Pileri y Mateu, 2016).

En Chile se logró erradicar la enfermedad, que fue descrita por primera vez en Estados Unidos en 1987 y en Chile a fines de 1999 (Ramírez *et al.*, 2007). Sin embargo, en 2013 se confirmaron casos sospechosos en una granja comercial de porcinos; se determinó que los

aislados obtenidos en 2013 y 2015 correspondían a una nueva cepa introducida al país, distinta a la previamente erradicada, la secuencia PRRSV2/Indiana/XW079/2013, la cual difiere de las aisladas en el plan de erradicación 2000-2007 (Neira *et al.*, 2017). Debido a lo anterior, se puso en marcha un Plan Nacional de Control y Erradicación de PRRS, el cual involucra al 100% de los planteles industriales de Chile y un número importante de planteles no industriales, el cual sigue vigente (SAG, 2017).

### **Vías de contagio del Virus**

El PRRSV se transmite mediante el contacto cercano entre el portador y el cerdo susceptible, estos contactos son propiciados por los movimientos de animales en producciones intensivas (compra de destetes y reproductores de reemplazo) (Albina, 1997). La infección probablemente ocurra a través del contacto nariz a nariz o por contacto con orina o heces (Rossow *et al.*, 1994), a través de la mucosa o percutáneamente (Pileri y Mateu, 2016). Una vez adquirido, el virus posee la capacidad de inmunosuprimir e inmunoregular, lo que le permite prolongar el tiempo de viremia en los animales enfermos (López-Heidek *et al.*, 2015).

La eliminación del virus ocurre a través de la saliva, secreciones transplacentarias, mamarias y muy posiblemente excremento, sin embargo, la principal vía de transmisión la constituye el contacto directo o por objetos contaminados (López-Heidek *et al.*, 2015). Se puede eliminar por la saliva hasta 42 días post infección (dpi), por orina hasta 14 dpi, heces hasta 35 dpi y secreciones nasales 21 dpi (Ruiz *et al.*, 2009). La transmisión de la enfermedad varía en función de la inmunosupresión o inmunoregulación que ejerza el virus y de la edad del huésped, en adultos es de una o dos semanas y en lechones de 10 a 12 semanas hasta varios meses (López-Heidek *et al.*, 2015).

Las formas de transmisión incluyen: la transmisión aérea (larga o corta distancia), mediante coito o inseminación, ingesta, contacto e inoculación (generalmente iatrogénica), la transmisión vertical es importante durante el último periodo de gestación (Pileri y Mateu, 2016). El PRRSV puede ser transportado por aerosoles en una distancia de 150 metros (Otake *et al.*, 2002a), de forma aérea puede ser transportado hasta de 9,1 km. (Alonso *et al.*, 2012). Los vehículos usados para transportar animales y asociados con fómites (botas,

overoles, materiales de cama, etc.), también pueden diseminar la infección por largas distancias geográficas (Thakur *et al.*, 2015).

Los operadores y vehículos con mayor riesgo de diseminar el virus son: veterinarios, técnicos en inseminación artificial, camiones de leche, transportadores de ganado y camioneros (que entran en contacto directo con animales y sus desechos) (Rossi *et al.*, 2017). Además, los contagios siguen un patrón por temporadas, lo cual podría deberse a la estabilidad del virus en las temporadas más frías (Pileri y Mateu, 2016).

Otake *et al.*, (2002b), demostraron mediante su estudio, que las botas contaminadas y overoles pueden albergar PRRSV abreviando los períodos de incubación y podría transmitir PRRSV desde cerdos infectados a susceptibles, para ello el investigador designado tuvo contacto con un grupo de cerdos infectados y no siguió los protocolos de seguridad, utilizando las mismas botas para ingresar a un grupo distinto de cerdos susceptibles, mediante ELISA y sintomatología, se determinó que los cerdos del segundo grupo se contagiaron . Al respecto, Torremorell *et al.*, (2004), determinaron en su estudio, que el contagio de PRRSV se realizaba en un 83% por vías no atribuibles al semen o cerdos, y un 17% se podría atribuir a cerdos o semen (3% a los cerdos y 14% al semen).

### **Mecanismos de detección**

La infección por PRRSV se puede detectar mediante RT-PCR y serología. Para realizar RT-PCR, se debe aislar el virus desde una muestra de sangre sin anticoagulante y suero, evitando contaminarlo, mantener la muestra refrigerada (2 a 8°C) por 48 horas, si el procesamiento de la muestra se va a demorar, mantenerla congelada a -20° o entre -70°C y -78°C, idealmente (SAG, s.f.); mediante esta técnica también se han analizado muestras de fómites (Otake *et al.*, 2002b). Además, en 2016, Biernacka *et al.*, utilizaron PCR en tiempo real para detectar PRRSV desde muestras provenientes de fluidos orales de porcinos. Para realizar la serología (ELISA), se pueden usar las muestras nombradas anteriormente, y fluido oral. (SAG, s.f.).

## **HIPÓTESIS**

El Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino se encuentra presente en fómites (manilla de la puerta de sala, reja de los corales, suelo del corral y comedores), vectores (moscas) y muestras de aire en dos planteles de producción porcina de la Región Metropolitana, positivos al virus.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia del Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino en fómites, vectores y muestras de aire en dos planteles positivos al virus de la Región Metropolitana.

## **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Detectar Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino en fómites, vectores y muestras de aire en dos de planteles de producción intensiva infectados en la Región Metropolitana.

Determinar la asociación entre los resultados de las muestras de cerdos (fluido oral) y las muestras de fómites, vectores y muestras de aire.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta Memoria de Título corresponde a un estudio de campo descriptivo, de carácter preliminar, por tanto, el número de muestras y planteles estudiados fue elegido por conveniencia y no tiene base probabilística. La explicación de la racionalidad detrás del diseño de muestreo se describe al inicio de la parte de diseño muestral y obtención de muestras.

El muestreo de este estudio fue realizado desde noviembre de 2019 hasta enero del 2020, por lo que se desconoce la situación sanitaria actual de los planteles.

### **Diseño muestral y obtención de muestras**

El objetivo principal de este estudio es detectar la presencia de PRRSV en muestras ambientales de fómites, vectores y muestras de aire provenientes de unidades de crías que contengan cerdos positivos al virus (de acuerdo con el historial previo del plantel). Al momento del estudio solo existen dos planteles positivos al virus, que de ahora en adelante serán referidos como Plantel A y Plantel B, por lo tanto, el número de planteles será fijo. Las muestras del Plantel A se obtuvieron durante una visita en diciembre del 2019 y una visita en enero del 2020, y las muestras del Plantel B fueron obtenidas durante una visita en noviembre del 2019 y tres visitas en diciembre del 2019

Se diseñó el estudio de manera descriptiva, por tanto, se utilizaron varias muestras de campo con el fin de identificar PRRSV en fómites, vectores y muestras de aire de salas de cría con cerdos positivos en su interior. Las muestras y el número de éstas se obtuvieron dependiendo de las posibilidades del muestreo en terreno y no con base estadística, aunque existen varios estudios que avalan el número de muestras obtenidas en este estudio, como los realizados por Otake *et al.* (2010), y Dee *et al.* (2004). El muestreo incluyó superficies como manilla de la puerta de la sala, rejas, suelo, comedero, moscas, aire y como referencia a la presencia del virus en el lugar se obtuvieron muestras de fluido oral.

Se detectó PRRSV en 4 categorías de muestras: moscas, aire, superficies y fluidos orales. Los resultados de las tres primeras categorías se contrastaron con el resultado de los fluidos

orales, ya que indican si los cerdos están infectados o no. El detalle del total de réplicas es el siguiente:

**Detección de PRRSV en moscas:** Con el fin de asegurar la detección en presencia de PRRSV se analizaron un total de 31 réplicas, las cuales corresponden a todas las salas sospechosas de PRRSV de los planteles, en el intervalo de 1 mes.

**Detección de PRRSV en aire:** Se realizaron 27 réplicas, lo que corresponde al 100% de las salas confirmadas como positivas a PRRSV al momento de tener el equipo Liquid Cyclonic Air Collector, el cual fue facilitado por un tiempo limitado por la Dra. Montserrat Torremorell de la Universidad de Minnesota.

**Detección de PRRSV en superficies:** Se realizaron 32 réplicas en total, lo que permite detectar al menos una muestra positiva si la prevalencia es igual o mayor a 10%. Se sumaron todas las muestras ambientales ya que son todas tomadas con el mismo método.

A continuación, se describe el muestreo con el fin de entender la razón por la cual se obtuvo el número de muestras de cada tipo:

1) Muestras de fluido oral: Corresponde a una muestra grupal, en donde todos los cerdos del corral son capaces de depositar el fluido. Se instaló 1 cuerda trenzada de algodón por cada corral, las cuales fueron colgadas en la reja, y se dejaron un mínimo de 30 minutos para que los cerdos las mordieran. Posteriormente, se retiraron, estrujaron y colocaron dentro de bolsas herméticas debidamente rotuladas. El objetivo de estas muestras fue identificar al PRRSV mediante PCR, para contrastar los resultados ambientales. Las muestras no fueron procesadas para serología, ya que se asumió que son positivas debido a la condición de las granjas. Esta muestra es la base que permitió confirmar la presencia del virus, a su vez, permite que todos los cerdos del lugar tuvieran acceso a ella, obteniendo una mayor sensibilidad que muestreos de animales individuales. Ha sido demostrado, por Ramírez *et al.* (2012), que se pueden utilizar muestras de fluido oral para detectar diversos virus, entre ellos Circovirus Porcino Tipo 2 (PCV2), Virus de la Influenza A (IAV), Torque Teno Virus (TTV1 Y TTV2) y Virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSV). Al respecto, Biernacka *et al.* (2016), determinaron que el análisis de PCR en Tiempo Real realizado con muestras de fluidos orales de cerdos, presenta una mayor sensibilidad que las realizadas con muestras de

suero. Por último, para obtener las muestras, se recomienda utilizar una cuerda de algodón (Olsen *et al.*, 2013).

2) Muestras de moscas: La captura de las moscas (*Musca domestica*), se realizó en las salas de recría de los cerdos muestreados. Se usaron trampas Fly Catcher de Green Live (anexo 2), las cuales fueron suspendidas en los pasillos de los pabellones por un periodo de 30 minutos. Posteriormente, se depositaron en bolsas Ziplock hasta su procesamiento. Las trampas fueron sumergidas en solución salina fosfatada (PBS, por sus siglas en inglés) al 1x de concentración y maceradas. Luego se obtuvieron las alícuotas requeridas para a la extracción de RNA. Se obtuvo una muestra de moscas por sala muestreada, cada muestra incluyó por lo menos 100 moscas, debido a que, se buscó que todas las moscas de la sala se pegaran a la trampa. Se utilizaron muestras de mosca, ya que se ha demostrado que los insectos pueden transportar PRRSV por 2,4 Km., después de estar en contacto con una población de cerdos infectada (Schurrer *et al.*, 2004). Entre ellos, se ha probado que la mosca, transmite mecánicamente el PRRSV de cerdos infectados a cerdos que no han sido expuestos al virus, bajo condiciones experimentales (Otake *et al.*, 2004).

3) Muestras de superficie: Todas estas muestras se obtuvieron mediante el uso de apósitos estériles humedecidos con SIV (Solución de infección viral,) los cuales fueron frotados sobre la superficie, para obtener las muestras. Posteriormente, los apósitos humedecidos se estrujaron de manera individual en tubos de centrífuga de 50 mL, debidamente etiquetados. Se espera obtener asilados de las superficies, ya que, el PRRSV tiene una viabilidad de al menos 60 minutos en metal, hormigón, poliestireno y cristal, y hasta 24 horas en plástico (Dee, Otake y Deen., 2011). A continuación, se detalla cada muestra de superficie:

- a) Manilla de puerta de la sala: Se obtuvo una muestra de manilla por muestreo debido a que solo existe 1 manilla por sala. No tiene base estadística, pero corresponde al 100% de las manillas presentes.
- b) Reja de la sala: Se obtuvieron dos muestras de rejas de salas por muestreo, este número está basado en estudios previos, en los cuales se ha evidenciado que, si un virus aerógeno está presente en los animales, al obtener dos muestras es altamente probable encontrarlo en las rejas (Neira *et al.*, 2016).

- c) Comedero: Se obtuvo una muestra de comedero por muestreo de sala, lo que corresponde al 25% de todos los comederos de la sala. No tiene base estadística, sin embargo, las muestras se obtuvieron del mismo lugar proveniencia de las muestras de fluido oral, por tanto, es relevante obtener muestras desde este lugar.
- d) Suelo: Se obtendrá una muestra de suelo por muestreo de sala, manteniendo el criterio de las muestras de comederos. Se debe tener en consideración que, si bien la viabilidad del virus varía según la estación del año, siendo menor en temporadas de calor, sin importar el clima, puede ser trasladado a una instalación, por un fómite (Dee *et al.*, 2002; Dee *et al.*, 2003).

7) Muestras de aire: Se tomaron dentro y fuera de las salas de los planteles, utilizando el equipo Liquid Cyclonic Air Collector (anexo 3), compuesto de una fuente de poder eléctrica, una turbina y un recipiente de recolección de aluminio y plástico extraíble, en el cual se colocan los medios líquidos para la recolección de las muestras (Corzo *et al.*, 2013). Para la recolección se utilizó SIV. Entre cada toma de muestra, se lavó el recipiente que contenía el medio y se guardó para ser usado posteriormente como control negativo. El equipo Liquid Cyclonic Air Collector, fue gentilmente facilitado por la Dra. Montserrat Torremorell de la Universidad de Minnesota. El uso de dos muestras de aire por muestreo de sala está basado en estudios previamente realizados en donde se ha evidenciado que, si un virus aerógeno está presente en los animales, al obtener dos muestras es altamente probable encontrarlo (Neira *et al.*, 2016). La relevancia de esta muestra radica en que, la transmisión por vía aérea de patógenos ocurre a través de aerosoles que son inhalados e ingresan al sistema respiratorio, y a través de objetos contaminados por gotas, los cuales se transforman en fómites (Gonçalves *et al.*, 2019).

Todas las muestras colectadas fueron debidamente identificadas y mantenidas a 4°C hasta el arribo al Laboratorio de Virología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, dónde se extrajo el material genético y se evaluó por RT-PCR para detectar el virus, según protocolos descritos en condiciones de bioseguridad nivel 2 (BSL-2). La obtención de las muestras se realizó como fue descrito previamente.

## **Diagnóstico**

### **Extracción de RNA**

La extracción de RNA se realizó siguiendo el protocolo estándar del laboratorio, el cual se puede revisar en Agüero *et al.*, 2020. La extracción se realizó en un gabinete de bioseguridad, siguiendo las instrucciones del fabricante del Kit de extracción (Winkler, s.f), usando Solución de Chomczynski con Fenol (Winkler, BM-1755, Chile).

Para ello se alicuotaron 250 uL para cada muestra y se mezclaron con 750 uL de Solución Chomczynski en tubos Eppendorf, para el control de extracción se usó agua libre de nucleasas 250 uL en 750 uL de Solución Chomczynski (en cada extracción realizada).

Para obtener el RNA purificado, se lisó la pared celular y se homogenizó con la Solución de Chomczynski con Fenol; luego se agregó Cloroformo, para formar dos fases, una acuosa que contiene el RNA, y otra orgánica que contiene el DNA y las proteínas; por último, se realizó una precipitación con Alcohol Iso- Propílico. El RNA obtenido en este proceso se almacenó en congelador a -20°C, para su posterior uso. (Winkler, s.f).

Al final de todo el proceso se obtuvieron 116 tubos Eppendorf con RNA disuelto en agua libre de nucleasas.

### **PCR Tiempo Real**

Para la detección de PRRSV se utilizó el kit AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagents kit (Life Technologies, 4387391, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante en una mezcla total de 25 uL, con las siguientes condiciones de termociclado: 45°C por 10 minutos de transcripción reversa y 95°C por 10 minutos de denaturación inicial, seguidos de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos y 60°C por 45 segundos para la alineación de los cebadores y extensión. Los valores de ciclo umbral (Ct) menores a 40 fueron considerados como muestra positiva. Los partidores de este programa de amplificación no se describen, ya que corresponden a secreto industrial.

## **Análisis de resultados**

Los resultados son presentados de forma descriptiva, se ordenaron los datos en 4 categorías de muestreo, considerando subdivisiones en las muestras de aire y fómites, y se expresaron los datos mediante tablas, las cuales permitieron obtener una matriz de datos para determinar las cifras de las mediciones realizadas y gráficos, con lo cual, se pueden mostrar las tendencias de estos datos y compararlos visualmente (Rendón, Villasís y Miranda, 2016). Si bien el PCR en tiempo real es una prueba de cuantificación relativa, no es correcto comparar resultados de Ct para hacer asociaciones de resultados, por tanto, se analizaron como positivo o negativo. Además, se consideró un  $Ct < 40$  como punto de corte, ya que el cebador es propio del laboratorio y se estandarizó de esta manera, determinado que con  $Ct < 40$  no existen planteles falsos positivos.

## RESULTADOS

Durante noviembre y diciembre del 2019, y enero del 2020 se muestrearon dos planteles positivos al PRRSV. Las muestras se obtuvieron acorde a las condiciones de terreno, por tanto, se obtuvieron totales distintos en las 4 categorías de muestreo: fluido oral, aire, mosca y fómites. Para poder comparar las muestras se ordenaron los datos obtenidos y se presentaron en tablas y gráficos.

Entre ambos planteles se obtuvo un total de 116 muestras, divididas en 45 muestras del Plantel A y 71 del Plantel B. Las categorías de muestreo de aire y de fómites se cuentan con subcategorías, debido a que se tomaron muestras de lugares distintos. En el caso del aire, este se obtuvo en dos sitios específicos dentro de la sala y fuera de la sala, que de ahora en adelante será descrito como aire interno y aire externo respectivamente. Respecto a los fómites, las muestras se obtuvieron de: reja, suelo, comedero, y manilla de la puerta, de ambos Planteles. Considerando la obtención de muestras por categoría, en el Plantel A se obtuvieron 13 muestras de fluido oral, 4 de aire interno, 6 de aire externo, resultando con 10 muestra de aire en total, 6 de mosca y 4 de cada subdivisión de las muestras de fómites resultando en 16 muestras totales. En el Plantel B se obtuvieron 13 muestras de fluido oral, 7 de aire interno, 10 de aire externo, dando un total de 17 de aire, 25 de mosca y 4 de cada subdivisión de fómites, con un total de 16 muestras (Tabla 1). Se debe considerar que cada muestra corresponde a un pool de muestras y no a un muestreo individual.

**Tabla 1. Número de muestras por categoría en cada plantel**

	FLUIDO ORAL	AIRE INTERNO	AIRE EXTERNO	MOSCAS	FÓMITE REJA	FÓMITE PUERTA	FÓMITE COMEDERO	FÓMITE SUELO
Plantel A	13	4	6	6	4	4	4	4
Plantel B	13	7	10	25	4	4	4	4
Total	26	11	16	31	8	8	8	8

En cuanto a la positividad de las muestras, en la Tabla 2 y Tabla 3 se puede apreciar el porcentaje de positividad asociado al número de muestras de cada categoría. El Plantel A presento un 69% de muestras de Fluidos Orales positivas, 10% de Aire, 0% de Moscas y

37% Fómites (Tabla 2); en cuanto al Plantel B se presentó un 77% de positividad en los Fluidos Orales, 12% Aire, 8% Moscas y 7% Fómites (Tabla 3).

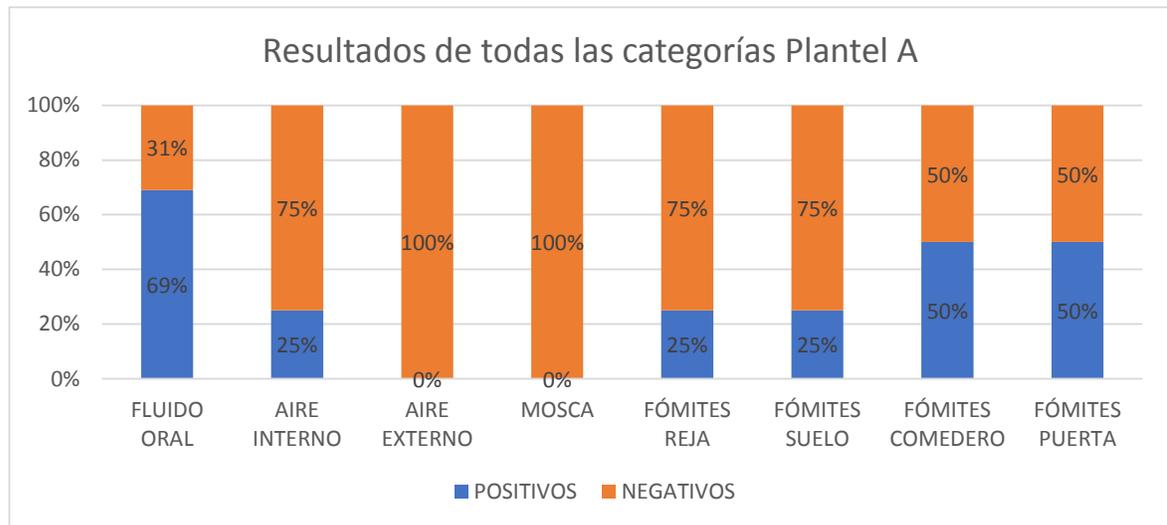
**Tabla 2. Resultados Plantel A**

PLANTELA A	FLUIDO ORAL	PORCENTAJE	AIRE	PORCENTAJE	MOSCA	PORCENTAJE	FÓMITES	PORCENTAJE
POSITIVOS	9	69%	1	10%	0	0%	6	37%
NEGATIVOS	4	31%	9	90%	6	100%	10	63%
TOTAL	13	100%	10	100%	6	100%	16	100%

**Tabla 3. Resultados Plantel B**

PLANTELA B	FLUIDO ORAL	PORCENTAJE	AIRE	PORCENTAJE	MOSCA	PORCENTAJE	FÓMITES	PORCENTAJE
POSITIVOS	10	77%	2	12%	2	8%	1	7%
NEGATIVOS	3	23%	15	88%	23	92%	15	93%
TOTAL	13	100%	17	100%	25	100%	16	100%

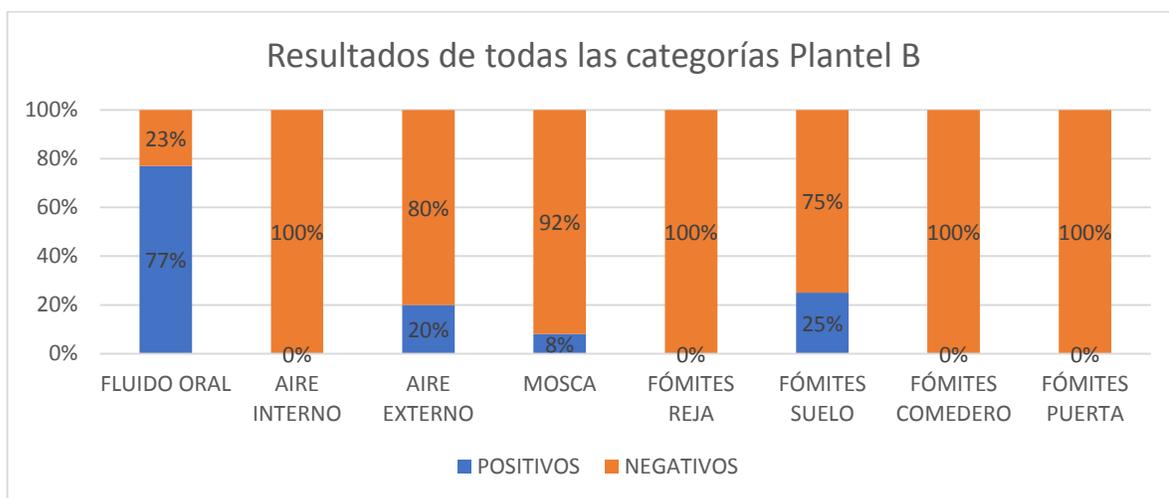
Al desglosar los resultados de las subcategorías se puede apreciar en el Plantel A el porcentaje de positividad de las muestras de aire corresponde a las muestras de aire interno y que la positividad de las muestras de Fómites corresponde a un 25% tanto en las muestras de reja como de suelo y un 50% en las muestras de comedero y manija de la puerta (Esquema 2).



**Esquema 1. Gráfico resultados de todas las categorías Plantel A**

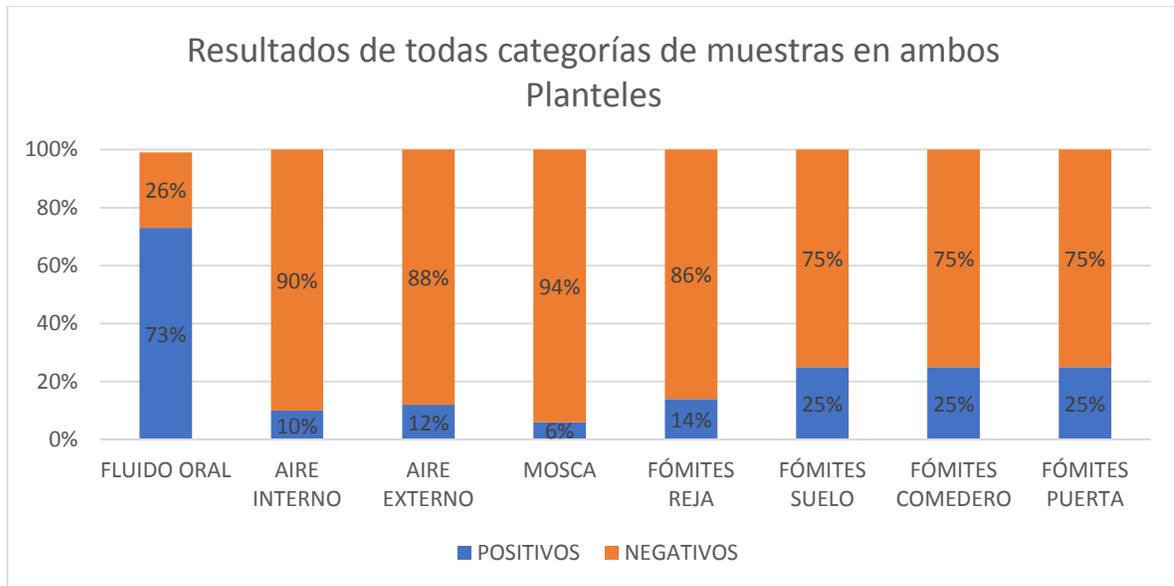
En cuanto al Plantel B, las muestras de Fluido oral poseen un porcentaje de positividad del 77%, no hay muestras de aire interno positivas, existe un 20% de las muestras positivas a

aire externo, un 8% en las muestras de Moscas y solo las muestras de Fómites de suelo resultaron positivas en un 25% (Esquema 3).



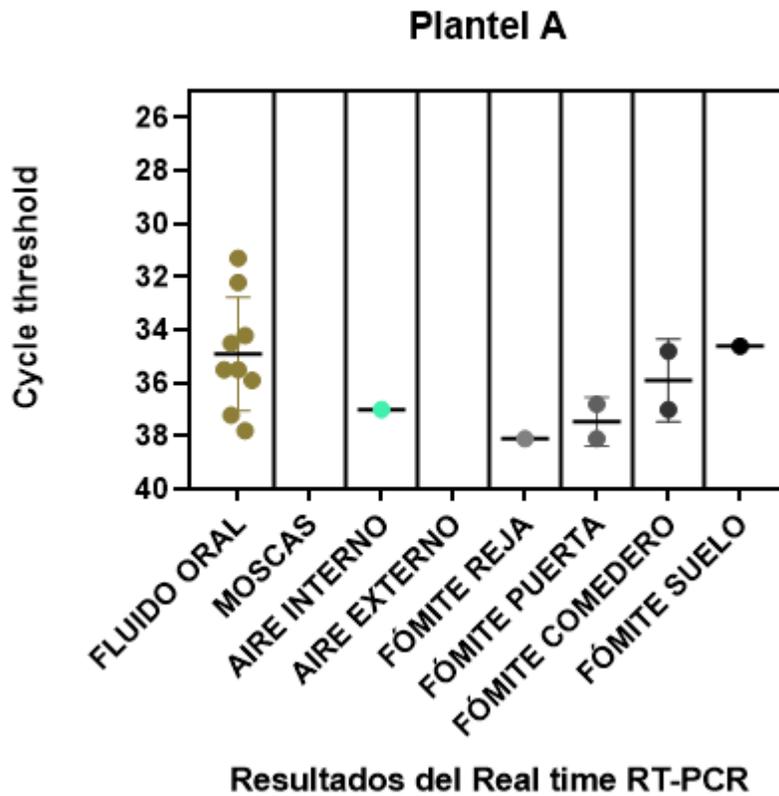
### Esquema 2. Gráfico porcentaje muestras positivas plantel B

Con el fin de comparar ambos planteles se registraron los resultados en todas las categorías (Esquema 4). En base a los resultados se puede inferir que los fómites son la fuente de contagio a la que se le debería prestar mayor atención, tanto en los fómites de suelo, comedero y manilla de la puerta, cada uno de los cuales presentó un 25% de positividad, como los fómites de reja con un 14% de positividad. El aire quedaría en segundo lugar, como potencial fuente de contagio, al respecto, se debe tener en consideración que el aire externo con un 12% de positividad representa un riesgo ligeramente mayor que el aire interno con un 10% de positividad. En tercer lugar, quedarían las moscas como fuente de infección, con un 6% de positividad.



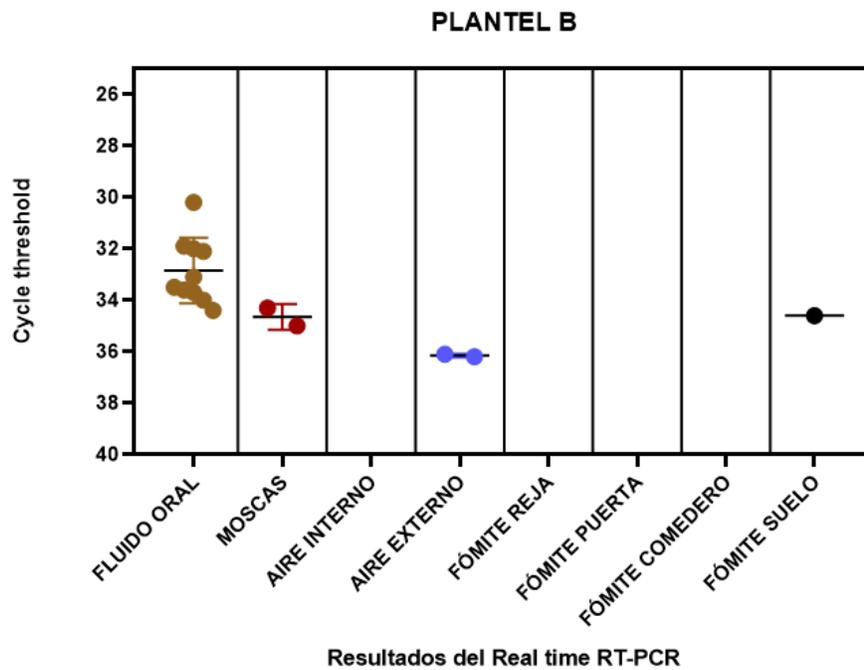
**Esquema 3. Gráfico porcentaje muestras positivas en ambos Planteles**

Con el fin de vislumbrar los resultados por Ciclos umbrales se realizaron gráficos de cada plantel y ambos planteles. En el caso de Plantel A (Esquema 5), 9 muestras de fluidos orales resultaron positivas con los siguientes valores de Ct: 37,8 - 35,5 – 34,5 - 37,2 - 35,5 - 35,9 - 31,3 - 32,2 - 34,2. Respecto al aire 1 muestra de aire interno fue positiva con un Ct de 37 y ninguna muestra de aire externo dio positiva. En cuanto a los fómites todas las subcategorías dieron al menos un resultado positivo, los cuales son detallados a continuación: un resultado positivo en los fómites de reja con Ct 38,1, dos positivos en los fómites de puerta con Ct 38,1 y 36,1, dos fómites de comedero positivos con Ct 34,6 y 37, y un fómite suelo positivo con Ct 34,6.



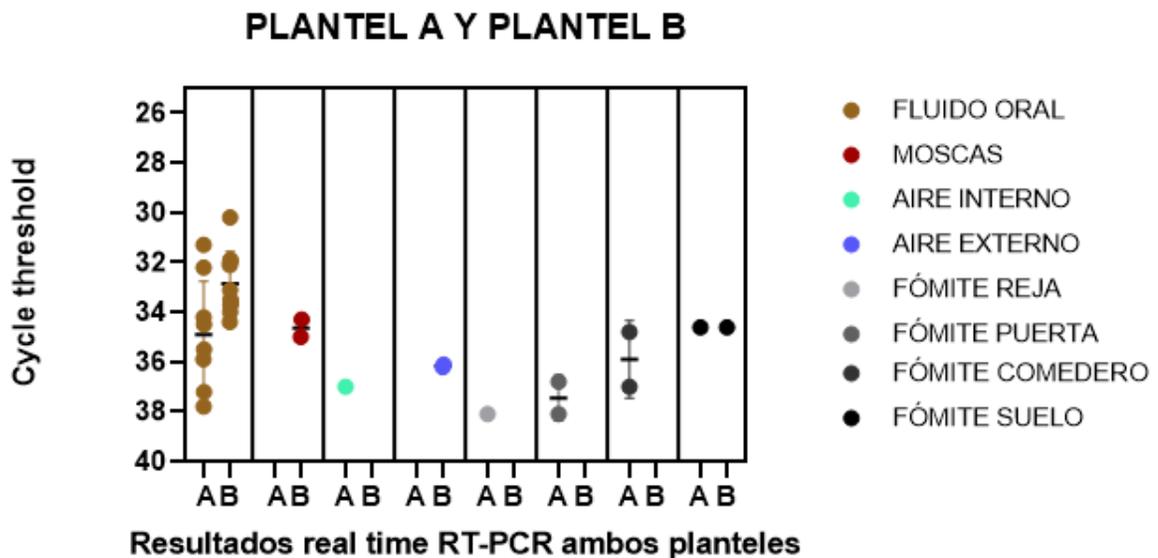
**Esquema 4. Ciclos umbrales positivos Plantel A**

En el caso del Plantel B (Esquema 6), 10 muestras de fluido oral resultaron positivas con Ct 32 – 33,5 – 34 – 34,4 – 33,6 – 32,1 – 33,1 – 33,7 – 31,9 – 30,2. Se obtuvieron 2 muestras de moscas positivas con Ct 35 y 34,5. Respecto a las muestras de aire, no hubo muestras positivas de aire interno y se obtuvieron 2 muestras positivas de aire externo con Ct 36,1 y 36,5 respectivamente. Por último, en cuanto a las muestras de fómites, solo 1 muestra de fómites de suelo dio positivo con un Ct 34,6.



**Esquema 5. Gráfico Ciclos umbrales positivos Plantel B**

Mediante el Gráfico Ciclos umbrales positivos en ambos planteles (Esquema 7), se puede vislumbrar que todas las categorías arrojaron al menos una muestra positiva.



**Esquema 6. Ciclos umbrales positivos ambos planteles**

Debido a las diferencias en cantidades de muestras obtenidas y a que existen pocos resultados positivos de estas, no es posible realizar análisis estadísticos robustos para comparar entre tipos de muestra. No obstante, fue posible realizar el test exacto de Fisher comparando los resultados obtenidos de fluido oral, el cual corresponde a la muestra control y demuestra fielmente la condición de los cerdos, frente a los diferentes tipos de muestras ambientales, se utilizó el programa Graphpad Prism 8.0.1 para realizar los cálculos. En la mayoría de los casos (Esquema 7), los resultados de fluido oral analizados frente a todas las muestras ambientales individualmente reportaron valores menores de  $P < 0.05$ . Lo cual indica, que hubo diferencias en el nivel de detección, por tanto, la detección de muestras de fómites no es predictor de lo que ocurre en los cerdos. La excepción estadística fue la comparación entre el fluido oral y muestras de fómites en el plantel A en donde se reportó un valor de p de 0.14, lo cual indica que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre la detección a nivel de fluido oral y la de fómite, ya que en esta última hubo una alta detección del PRRSV y se obtuvo al menos una muestra positiva en cada categoría de fómite. Por lo anterior, las muestras de fómites podrían servir como un tipo de muestra alternativa para la detección del virus en el plantel.

<b>Resultados Prueba de Fisher</b>	<b>F.O vs Aire</b>	<b>H<sub>0</sub></b>	<b>H<sub>1</sub></b>	<b>F.O vs Moscas</b>	<b>H<sub>0</sub></b>	<b>H<sub>1</sub></b>	<b>F.O vs Fómites</b>	<b>H<sub>0</sub></b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Plantel A	0.0097	+	-	0.0108	+	-	0.1394	-	+
Plantel B	0.0005	+	-	<0.0001	+	-	0.0003	+	-
Ambos planteles	<0.0001	+	-	<0.0001	+	-	0.0002	+	-

**Esquema 7. Tabla resultados test exacto de Fisher.** F.O: Fluido oral, H<sub>0</sub>: Hipótesis nula indica que no existe asociación entre las muestras, H<sub>1</sub>: Hipótesis alternativa indica que existe asociación entre las muestras, -: indica que se rechaza la hipótesis, +: indica que se acepta la hipótesis.

## DISCUSIÓN

Pese a que no se han reportado nuevas infecciones en sistemas comerciales desde octubre del 2014, y en la actualidad existe un programa de erradicación de la enfermedad, Chile presenta uno de los pocos casos documentados de reintroducción del PRRSV en un país libre de la enfermedad (Neira *et al.*, 2017). Uno de los problemas principales para lograr el control de la transmisión del PRRSV es la reinfección que puede ocurrir por diversas rutas (Larger *et al.*, 2002). De las cuales, tres han sido investigadas en condiciones de terreno mediante este estudio, abarcando la transmisión aérea, por vectores y mediante fómites. Se debe tener en consideración que las muestras se obtuvieron en los meses de noviembre, diciembre y enero, época de calor en Chile, y temporada en la cual la supervivencia del virus disminuye ya que la temperatura en el mes más cálido en la Región Metropolitana alcanza los 22,1°C, por consiguiente, las muestras tomadas en este estudio sobrevivirían un periodo corto a temperatura ambiente, alrededor de 6 días (BCN, s.f.).

En este estudio se optó por el uso de fluidos orales como muestra para detectar PRRSV por sobre el suero. Este muestreo ha aumentado su demanda en comparación a otras pruebas (Castillo y Ramírez, 2021), lo cual podría deberse a su facilidad de obtención y resultados comprobados, aunque podría ligarse a su comprobada sensibilidad, rapidez y rentabilidad (Kittawornrat *et al.*, 2012, Castillo y Ramírez, 2021). La única dificultad reportada respecto al fluido oral es la complejidad en la toma de muestras lechones no destetados (Castillo y Ramírez, 2021). Sin embargo, este no fue el caso ya que todos los cerdos en estudio se encontraban en etapa de recría.

Si bien se ha demostrado que la transmisión a través de vectores (mosquitos y moscas) es posible en condiciones experimentales (Otake *et al.*, 2002; Otake *et al.*, 2004), Torremorell y sus colaboradores en 2004 determinaron un caso probable de infección causada por insectos en su estudio realizado en condiciones de terreno, el cuál duró 4 años. En este caso presentamos 2 muestras positivas de un total de 25 en el Plantel B, por tanto, podrían contribuir a la recirculación del virus, lo cual es interesante si se considera la época del año en la que se tomaron las muestras. Para evitar la presencia de moscas, se puede instalar mosquiteros, implementar el uso de cebos e insecticidas en conjunto con la limpieza de las instalaciones (Pitkin *et al.*, 2009a)

Respecto a las muestras de aire, en 2009 Dee y sus colaboradores obtuvieron muestras positivas que recorrieron una distancia de 4,7 Km, el sitio que actuó como fuente de contagio se encontraba a una altura de 309 M sobre el nivel del mar, y los investigadores indican que variaciones en la topografía podrían afectar hallazgos similares. Las muestras de aire que obtuvimos tuvieron un porcentaje de positividad de 10% y 12% en el plantel A y B, lo que se contrasta con los resultados obtenidos por *Brito et al.* en 2014, quienes midieron la frecuencia de detección, dosis y diversidad de PRRSV en muestras de aire recolectadas en 4 regiones de alta producción (producción concentrada) durante la temporada de alto riesgo de PRRS en el medio oeste de US (Octubre – Diciembre) en 2012, obteniendo un 29% y 42% de las muestras de aire positivas en los 4 sitios de muestreo. Aunque este estudio no presentó el mismo porcentaje de positividad que el obtenido por *Brito et al.* en 2014, hay que considerar que *Alonso et al.*, en 2012 demostraron que incluso utilizando filtros de aire de movimiento retrógrado existe un riesgo de contaminación, es por esto que tanto el aire como fuente de contaminación y las medidas que se utilizan para disminuirla no deben ser descuidadas, se debe considerar que se observa una mayor frecuencia, dosis, y diversidad de PRRSV en el aire en localidades con alta densidad de cerdos (*Brito et al.*, 2014).

No obstante, *Alonso* y sus colaboradores indicaron en 2017, que la “fiabilidad de los métodos de cuantificación de los virus asociados a partículas, al igual que el tamaño y distribución de estas partículas en aerosol que contienen estos virus no está bien documentada en condiciones de campo” *Brito et al.*, 2014 señala que sus hallazgos sugieren que la propagación del PRRSV debido a la transmisión por aerosoles representa un riesgo significativo para grupos de cerdos susceptibles en regiones con producción porcina intensiva donde el PRRSV es endémico, algo similar señala *Alonso et. al* en 2017, “el riesgo de transmisión aérea es más problemático en áreas con granjas y animales de alta densidad, donde la diseminación regional puede ser más difícil de contener”. Cabe destacar que tanto *Brito* como *Alonso* realizaron su muestreo en épocas frías en el hemisferio norte, y por tanto pese a la baja detección en el presente estudio debe tomarse en cuenta que el aire puede ser transmisor del virus incluso en épocas cálidas como en la temporada de verano.

Por lo general, no existen estudios acerca de la transmisión del PRRSV por aire en verano, sin embargo, en Chile los últimos dos eventos de transmisión han sucedido durante esta

época, por tanto, es un tema a estudiar. Además, existe un estudio de Influenza A en donde se demostró la presencia del virus en el aire incluso con temperaturas y humedad relativa elevadas, esto podría contribuir a entender que a pesar de la baja detección en estas condiciones igualmente es posible considerarla una fuente de virus (Neira et al 2018).

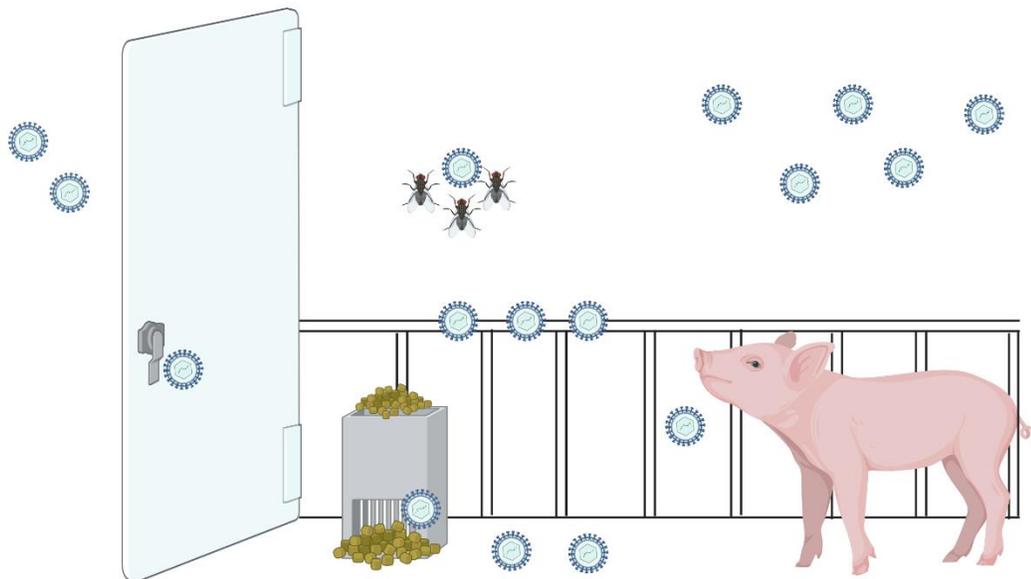
El riesgo que suponen los aerosoles y fómites, se puede minimizar instaurando controles de acceso, sistema de doble puerta de entrada y salida para evitar el ingreso de aire, habitaciones destinadas a la recepción y desinfección de suministros, y sistemas filtradores de aire (Pitkin et al, 2009a, Pitkin *et al.*, 2009b). Con respecto al riesgo de transmisión mediante aire contaminado, hasta la fecha no existen en Chile planteles con aire filtrado, por tanto, representa un potencial riesgo constante, ya que el virus no solo puede transmitirse por aire, sino que también mediante moscas, tal como fue explicado anteriormente.

Respecto a los fómites, estos pueden ser transmitidos entre granjas a través del movimiento generado en las visitas realizadas por el personal, el cuál puede cargar fómites en su ropa, equipamiento, o vehículos, sin embargo, los datos al respecto son difíciles de conseguir debido a la heterogeneidad de su naturaleza y a cuestiones de privacidad (Rossi *et al.*, 2017). En este estudio las muestras fueron obtenidas de materiales inertes (manillas, suelo, comedores y rejas) y el nombre de los planteles mantenidos en el anonimato. Respecto a los planteles de este estudio, implementaban el acceso controlado como parte de las medidas de bioseguridad en las granjas, lo que incluía pediluvios, cámara de fumigación, ducha de entrada y salida, y acceso restringido. Estas medidas no solo evitan el ingreso del virus, sino que también reducen el riesgo de propagación a otros planteles.

En base a lo planteado, es vital utilizar la metodología para seleccionar los análisis de riesgos más probables, dirigir los requisitos de vigilancia y establecer las medidas de control más adecuadas, al identificar las distintas rutas de transmisión (Brookes *et al.*, 2015, Pietro *et al.*, 2018), concentrar los esfuerzos, principalmente en medidas de bioseguridad adecuadas (la mejor herramienta para evitar la introducción del PRRSV) en las vías frecuentemente implicadas en nuevas infecciones o reinfecciones: la entrada de animales portadores del virus (aplicación de esquemas diagnósticos y buenos protocolos de cuarentena), y semen contaminado (control de calidad del mismo) (Álvares y Ruiz-Fons, 2013).

Los resultados obtenidos en este estudio, demuestran que existe contaminación de muestras ambientales con PRRSV, lo cual se traduce en potencial fuente de transmisión del virus. Sin embargo, si bien existe detección y se demuestra el potencial de riesgo, en general es difícil detectar muestras positivas incluso en el contexto de una granja con infección activa. Por lo tanto, la utilidad de la implementación de muestras ambientales para medir la efectividad de las medidas de control implementadas para disminuir el riesgo de transmisión de PRRSV puede ser evaluada, teniendo en consideración la proporción de costo beneficio (Prieto *et al.*, 2018).

Por último, se debe recalcar que el éxito de estos programas depende totalmente de su ejecución coordinada por parte de todos los actores implicados (productores, profesionales



sanitarios y administración) con el fin de garantizar buenos resultados (Álvares y Ruiz-Fons, 2013).

**Esquema 7. Fuentes de infección en el corral de cerdos.** De acuerdo a nuestro estudio el virus puede ser detectado en el suelo, los comederos, las rejas, las manillas de las puertas, en partículas del aire y moscas. Elaboración propia

## **CONCLUSIÓN**

El PRRSV se puede encontrar presente en muestras de aire, moscas y fómites en condiciones de terreno, el suelo y el comedero componentes con los cuales los cerdos se encuentran en constante contacto son fuentes probables de contaminación. La evidencia indica que reforzar las medidas de bioseguridad, enfatizando la higiene de los operadores y el lugar que habitan los cerdos contribuye a disminuir la transmisión de la enfermedad y los brotes. Además, varios autores han indicado la importancia de detectar las vías de transmisión del PRRSV, para enfocar las medidas de detección.

Si bien, debido al número de muestras y las condiciones de terreno (no se pudieron obtener más muestras posteriormente, ya que coincidió con el inicio de la pandemia) este estudio presentó un enfoque descriptivo que confirma que el virus se puede detectar en distintas muestras ambientales, las cuales pueden participar en la transmisión del virus incluso en clima cálido en época de verano.

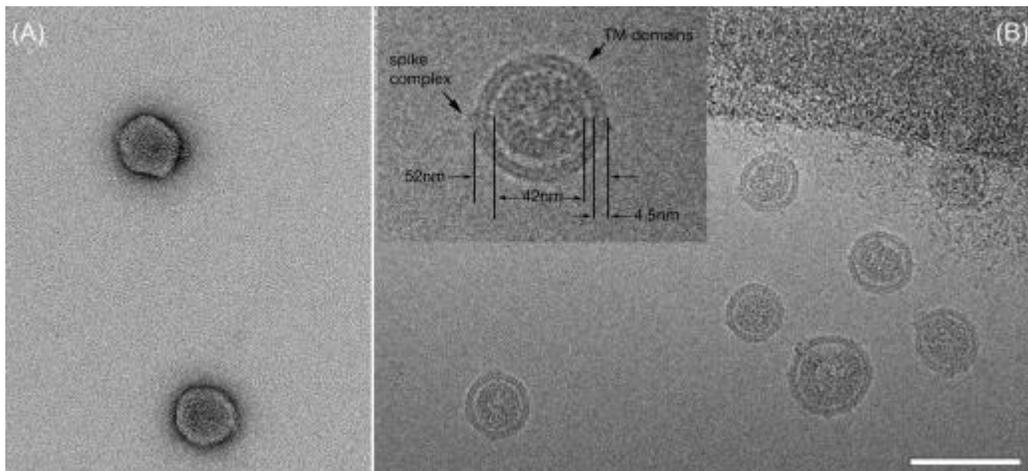
## ANEXOS

### ANEXO 1. Tabla de Sintomatología de PRRS en porcinos

Sintomatología de PRRS en el porcino		
Adultos	Camadas afectadas	Postdestete
Partos prematuros y abortos	Lechones débiles de tamaño variable	Pérdida de apetito y letargia
Mortalidad de hasta el 10 % en reproductoras	Elevada mortalidad predestete	Disminución en el desarrollo
Pérdida de equilibrio, movimientos circulares	Lechones momificados y mortinatos	Dificultades respiratorias
Falta de apetito, fiebre, abatimiento	Edema periorbital, temblores musculares	Enrojecimiento cutáneo

Fuente: Álvarez y Ruiz-Fons. Aplicaciones de la Epidemiología en el control del PRRS, 2013.

### ANEXO 2. Ejemplos de imágenes representativas del virión de PRRSV



(A) Imagen de tinción negativa (teñida con acetato de uranilo al 1%) en microscopio electrónico. (B) Imagen de partícula con las dimensiones indicadas, obtenida a través de microscopía electrónica criogénica. Barra de escala 100 nm. (Dokland, 2010)

### ANEXO 3. Imagen de la trampa Fly Catcher de Green Live



Extraída de: <https://en.yiwugo.com/product/detail/929705381.html>

### ANEXO 4. Imagen de Lyquid cyclonic air collector.



A la izquierda se presenta el equipo armado y a la derecha el equipo desarmado (Corzo *et. al.*, 2013)

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**AGÜERO, B; MENA, J; BERRIOS, F; TAPIA, R; SALINAS, C; DUTTA, J; VAN BAKEL, H; MOR, S; BRITO, B; MEDINA, R; NEIRA, V.** 2020. First report of porcine respirovirus 1 in South America. *Veterinary Microbiology*. 246: 108726.

**ALBINA, E.** 1997. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): An overview. *Veterinary Microbiology*. 55: 309-316.

**ALONSO, C; OTAKE, S; DAVIES, P; DEE, S.** 2012. An evaluation of interventions for reducing the risk of PRRSV introduction to filtered farms via retrograde air movement through idle fans. *Veterinary Microbiology*. 157: 304–310

**ALONSO, C; RAYNOR, P; GOYAL, S; OLSON, B; ALBA, A; DAVIES, P; TORREMORELL, M.** 2017. Assesment of air sampling methods and size distribution of virus-laden aerosols in outbreaks in swine and poultry farms. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. Vol. 29 (3): 295 – 304.

**ÁLVAREZ, J; RUIZ-FONS, F.** 2013. Aplicaciones de la epidemiología en el control del PRRS. *SUIS N°99 Julio/Agosto*.

**AMARILLA, S; AVALOS, A; SUAREZ, M; MARECOS, E; GONZÁLEZ, E.** 2015. Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino: Epidemiología, síntomas y lesiones. *Compendio de Ciencias Veterinarias*. 5 (2): 38-46.

**ASOCIACIÓN GREMIAL DE PRODUCTORES DE CERDOS DE CHILE (ASPROCER).** 2017. Reporte 2017.

**BIBLIOTECA DEL CONGRESO NACIONAL.** S.F. [en línea] <https://www.bcn.cl/siit/nuestropais/region13/clima.htm> [consulta: 13/03/2022]

**BIERNACKA, K; KARBOWIAK, P; WRÓBEL, P; CHAREZA, T; CZOPOWICZ, M; BALK, G; GOODELL, C; RAUH, R; STADEJEK, T.** 2016. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and influenza A virus (IAV) in oral fluid of pigs. *Research in Veterinary Science* 109: 74-80.

**BRITO, B; DEE, S; WAYNE, S; ALVAREZ, J; PEREZ, A.** 2014. Generic Diversity of PRRS Virus Collected from Air Samples in Four Different Regions of Concentrated Swine Production during a High Incidence Season. *Viruses* 2014, 6, 4424-4436; doi:10.3390/v6114424.

**BROOKES, VJ; HERNÁNDEZ-JOVER, M; HOLYOAKE, P; WARD, MP.** 2015. Industry opinion on the likely routes of introduction of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome into Australia from south-east Asia. *AVJ* Volume 93, No 1-2, January/February.

**CASTILLO, A; RAMÍREZ, M.** 2021. Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino: Una revisión del agente etiológico y su influencia en el comportamiento actual de la enfermedad. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 32 (1): e19645.

**CAVANAGH, D.** 1997. Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Archives of Virology.* 142: 629-633.

**CHILE.** Ministerio de Agricultura. 2014. Decreto 389 EXENTO Establece enfermedades de declaración obligatoria para la aplicación de medidas sanitarias y deroga decretos que indica. 14 noviembre 2014.

**CORTÉS, E; RUBIO, J; GAITÁN, H.** 2010. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproductibilidad de pruebas diagnósticas. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología.* (61): 3. 247-255.

**CORZO, C; CULHANE, M; DEE, S; MORRISON, R; TORREMORREL, M.** 2013. Airborne Detection and Quantification of Swine Influenza A Virus in Air Samples Collected Inside, Outside and Downwind from Swine Barns. *PlosOne* 8: 8

**DEE, S; DEEN, J; ROSSOW, K; WIESE, C; Otake, S; HAN SOO, J; PIOJAN, C.** 2002. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during cold weather. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 66: 232-239.

**DEE, S; DEEN, J; ROSSOW, K; WEISE, C; ELIASON, R; OTAKE, S; HAN SOO, J; PIOJAN, C.** 2003. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during warm weather. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 67: 12-19.

**DEE, S; DEEN, J; OTAKE, S; PIOJAN, C.** 2004. An Experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 68: 128-133.

**DEE, S; OTAKE, S; OLIVEIRA, S; DEEN, J.** 2009. Evidence of long distance airborne transport of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Res.* 40:39. DOI: 10.1051/vetres/2009022

**DEE, S; OTAKE, S, DEEN, J.** 2011. An evaluation of ultraviolet light (UV<sub>254</sub>) as a means to inactivate porcine reproductive and respiratory syndrome virus on common farm surfaces and materials. *Veterinary Microbiology.* 150: 96-99.

**DIETZE, K; PINTO, J; WAINWRIGHT, S; HAMILTON, C; KHOMENKO, S.** 2011. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Emergency Prevention System. 1, 1 - 8. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

**DOKLAND, T.** 2010. The structural biology of PRRSV. *Virus Research.* 154(1): 86-97.

**GONÇALVES, A; TOUSIGNANT, S; SANHUEZA, J; VILALTA, C; POLJAK, Z; TORREMORELL, M; ALONSO, C; CORZO, C.** 2019. Aerosol Detection and Transmission of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): What Is the Evidence, and What Are the Knowledge Gaps? *Viruses.* 11: 1-17.

**HOLTKAMP, D; KLIEBENSTEIN, J; NEUMANN, E; ZIMMERMAN, J; ROTTO, H; YODER, T; WANG, C; YESKE, P; MOWRER, C; HALEY, C.** 2013. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on United States pork producers. *Journal of Swine Health Production.* 21: 72-84

**INTERNATIONAL COMITTEE ON TAXANOMY OF VIRUSES (ICTV).** 2020. ICTV Taxonomy history: Betaarterivirus suid 1. [en línea] <[https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode\\_id=201901832](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=201901832)> [consulta: 17-06-2020]

**KITTAWORN RAT, A; PRICKETT, J; WNAG, C; OLSEN, C; IRWIN, C; PANYASING, Y; BALLAGI, A; RICE, A; MAIN, R; JOHNSON, J; RADEMACHER, C; HOOGLAND, M; ROWLAND, R; ZIMMERMAN, J.** 2012. Detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) antibodies in oral fluid specimens using a commercial PRRSV serum antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Vet Diagn Invest.* 24: 262-269. doi: 10.1177/10406-38711435679

**LÓPEZ-HEYDECK, S; ALONSO-MORALES, A; MENDIETA-ZERÓN, H; VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, J.C.** 2015. Síndrome reproductivo y respiratorio del Cerdo (PRRS) Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.* 6 (1): 69-89.

**NATHUES, H; ALARCON, P; RUSHTON, J; JOLIE, R; FIEBIG, K; JUMENEZ, M; GEURTS, V; NATHUES, C.** 2017. Cost of porcine reproductive respiratory syndrome virus at individual farm level – An economic disease model.

**NEIRA, V; RABINOWITZ, P; RENDAHL, A; PACCHA, B; GIBBS, S; TORREMONTELL, M.** 2016. Characterization of Viral Load, Viability and Persistence of Influenza A Virus in Air and on Surfaces of Swine Production Facilities. *PlosOne.* DOI: 10.1371/journal.pone.0416616

**NEIRA, V; BRITO, B; MENA, J; APEL, M.I; MAX, V; PEREZ, P; MORENO, V; MATHIEU, C; JOHOW, M; BADI, C; TORREMORELL, M; MEDINA, R; ORTEGA, R.** 2017. Epidemiological investigations of the introduction of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Chile, 2013-2015. *PlosOne.* 12 (7): e0181569.

**NEIRA, V; ALLERSON, M; CORZO, C; CULHANE, M; RENDAHL, A; TORREMORELL, M.** 2018. Detection of influenza A virus in aerosols of vaccinated and non-vaccinated pigs in a warm environment. *PLoS ONE* 13(5): e0197600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197600>

**OLSEN, C; KARRIKER, L; WANG, C; BINJAWADAGI, B; RENUKARADHVA, G; KITTAWORNAT, A; LIZANO, S; COETZEE, J; MAIN, R; MEISZBERG, A; PANYASING, Y; ZIMMERMAN, J.** 2013. Effect of collection material and simple processing on pig fluid testing results. *The Veterinary Journal*. 198: 158-163.

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE).** (Sin Fecha). Código Sanitario para los animales terrestres. Capítulo 15.3 Infección por el virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino. [en línea] <[https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre\\_prrs.htm](https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_prrs.htm)> [consulta: 30-04-2020]

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL (OIE).** 2008. PRRS: the disease, its diagnosis, prevention and control. Appendices IV and V of the Report of the OIE Ad Hoc Group on Porcine Reproductive Respiratory Syndrome. Paris. 9-11 Junio. 2008.

**OTAKE, S; DEE, S; JACOBSON, L; PIJOAN, C; TORREMORELL, M.** 2002a. Evaluation of aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under controlled field conditions. *Veterinary Record*. 150: 804-808.

**OTAKE, S; DEE, S; ROSSOW, K; DEEN, J; SOO JOO, H; MOLITOR, T; PIJOAN, C.** 2002b. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *Journal of Swine Health Production*. 10 (2):59-65.

**OTAKE, S; DEE, S; MOON, R; ROSSOW, K; TRINCADO, C; PIJOAN, C.** 2004. Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Veterinary record*. 154: 80-85.

**OTAKE, S; DEE, S; CORZO, C; OLIVEIRA, S; DEEN, J.** 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology*. 145: 198-208.

**PÉRTEGA, S; PITA, S.** 2004. Asociación de variables cualitativas: El test exacto de Fisher y el test de McNemar. [en línea] <<https://www.fisterra.com/mbe/investiga/fisher/fisher.asp>> [consulta: 01-11-2020].

**PIETRO, C; CASTRO, J.** 2005. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. *Theriogenology*. (63): 1–16.

**PIETRO, A; LÓPEZ, G; DÍAZ, P; DÍAZ, J; DÍEZ, P; FERNÁNDEZ, G.** 2018. Viral and Bacterial Environmental Detection in Livestock Farms. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier.

**PILERI, E; MATEU, E.** 2016. Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. *Veterinary Research*. 47:108.

**PITKIN, A; SATOSHI, O; DEE, S.** 2009. Biosecurity protocols for the prevention of spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. [en línea] <[https://www.aasv.org/aasv/PRRSV\\_BiosecurityManual\\_ES.pdf](https://www.aasv.org/aasv/PRRSV_BiosecurityManual_ES.pdf)> [consulta: 19-04-2022]

**PITKIN, A; DEEN, J; DEE, S.** 2009. Use of a production region model to assess the airborne spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 136, 1-7.

**RAMÍREZ, E; QUINTANA, M; RUIZ, A; ISLAS, A; LECOCQ, C; CERDA, L; QUEZADA, M.** 2007. Evaluación de la transmisión y capacidad de infección por contacto directo desde cerdos inoculados experimentalmente con el aislado chileno del virus síndrome respiratorio y reproductivo porcino. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 39 (2): 115 – 127.

**RAMÍREZ, A; WANG, C; PRICKETT, J; POGRANICHNIY, R; YOON, K.J; MAIN, R; JOHNSON, J; RADEMACHER, C; HOOGLAND, M; HOFFMANN, P; KURTZ, A; KURTZ, E; ZIMMERMAN, J.** 2012. Efficient surveillance of pig population using oral fluids. *Preventive Veterinary Medicine* 104: 292-300.

**RENDÓN, M; VILLASÍS, M; MIRANDA, M.** 2016. Estadística descriptiva. *Revista Alergia México*. 63: (4). 397-407.

**ROSSI, G; SMITH, R; PONGOLINI, S; BOLZONI, L.** 2017. Modelling farm – to – farm disease transmission through personnel movements: from visits to contacts, and back. *Scientific reports*. 7:2375. DOI: 10.1038/s41598-017-02567-6.

**ROSSOW, K; BAUTISTA, E; GOYAL, S; MOLITOR, T; MURTAUGH, M; MORRISON, R; BENFIELD, D; COLLINS, J.** 1994. Experimental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in one-, four-, and 10- week- old pigs. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Jan;6(1):3-12. doi: 10.1177/104063879400600102.

**RUIZ, A; NEIRA, V; RAMÍREZ, E; GARCÍA, A; LECOCQ, C; QUEZADA, M.** 2009. Estudio de la excreción y transmisión del aislado chileno del virus síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS) en animales inoculados experimentalmente y centinelas en contacto mediante RT-nPCR y ELISA. Archivos de Medicina Veterinaria. 41: 221-228.

**SCHURRER, J; DEE, S; MOON, R; ROSSOW, K; MAHLUM, C; MONDACA, E; OTAKE, S; FANO, E; COLLINS, J; PIJOAN, C.** 2004. Spatial dispersal of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated flies after contact with experimentally infected pigs. American Journal of Veterinary Research. 65: 1284-1292.

**SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG).** (Sin fecha). Instructivo técnico para el diagnóstico de PRRS mediante RT-PCR en tiempo real [en línea] <[http://www.sag.cl/sites/default/files/it\\_diagnostico\\_prrs\\_pcr\\_final.pdf](http://www.sag.cl/sites/default/files/it_diagnostico_prrs_pcr_final.pdf)> [consulta: 06-08-2020]

**SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO (SAG).** 2017. Avance del 92% en el saneamiento de los planteles afectados a nivel nacional. [en línea] <[http://www.sag.cl/sites/default/files/informe\\_situacion\\_prrs\\_a\\_mayo-2017.pdf](http://www.sag.cl/sites/default/files/informe_situacion_prrs_a_mayo-2017.pdf)> [consulta: 14-05-2020]

**THERMOFISHER SCIENTIFICT.** (sin fecha). Real-Time PCR: Understanding Ct. [en línea] <<https://www.thermofisher.com/cl/es/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/real-time-pcr-understanding-ct.html>> [consulta: 10-04-2022]

**THAKUR, K, CRAWFORD, W.R; HURNIK, D; ZVONIMIR, P; SANCHEZ, J.** 2015. Simulation of between-farm transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Ontario, Canada using the North American Animal Disease Spread Model. Preventive Veterinary Medicine 118: 413-426.

**TORREMORELL, M; GEIGER, J.O; THOMPSON, B; CHRISTIANSON, W.T.** 2004. Evaluation of potential sources of PRRS virus infection in negative herds. **In:** 2004 Allen D. Lemans Swine Conference. Franklin, USA. 18 September 2004. University of Minnesota. College of Veterinary Medicine. College of Agricultural, Food and Environmental Science. Extension Service Swine Center. pp. 12.

**VANHEE, M; VAN BREEDAM, W; COSTERS, S; GELDHOF, M; NOPPE, Y; NAUWYNK, H.** 2013. Characterization of antigenic regions in the porcine reproductive and respiratory syndrome virus by the use of peptide-specific serum antibodies. *Vaccine* 29: 4794–4804.

**WINKLER.** s.f. Purificación de RNA, DNA y Proteínas con la Solución Chomczynski con Fenol [en línea] < <http://winklerltda.cl/quimicav2/wp-content/uploads/2017/04/Solucion-de-Chomczynski-DNA-con-fenol.pdf> > [consulta: 30-04-2020].