



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Circovirus porcina

Jairo Jaime, MV, MSc, PhD

Profesor asociado – FMVZ, Universidad Nacional de Colombia
Director centro de investigación en infectología e inmunología
veterinaria - CI3V

Contenido:



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

1. Características virológicas de los circovirus
2. Diversidad de Circovirus Porcinos
3. Circovirus Porcinos en Colombia
4. Síndrome clínicos y diagnóstico
5. Control
6. Actualidad en Colombia

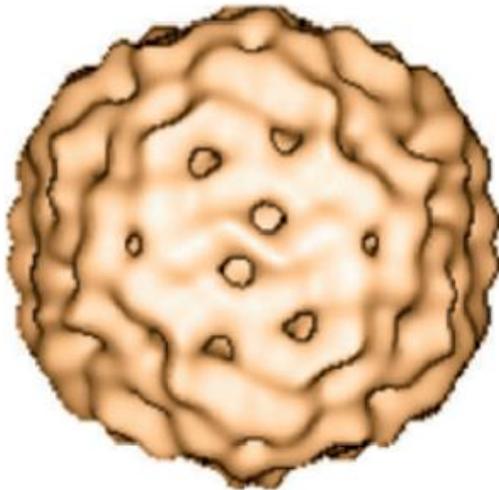
Características virológicas:



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Familia: *Circoviridae*
Genero: *Circovirus*

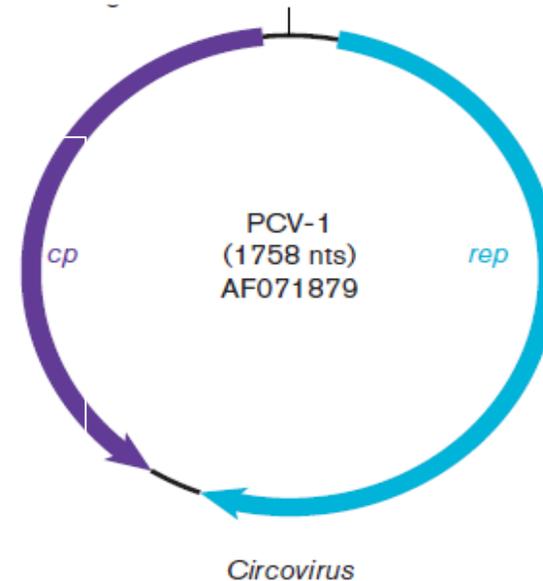
Virión	Desnudo
	Icosaedrico
	15-25nm



Genoma	DNA cadena sencilla circular - 1,7-2kb Codifica principalmente dos RNAm: Rev y Cap
---------------	---

Cap- Capside viral

- Proteína unión al receptor celular
- Proteína más inmunogénica



Rep-Replicación

Proteína favorece la replicación viral

Características virológicas:

Familia: *Circoviridae*

Genero: *Circovirus*



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Rango de huéspedes

Diferentes mamíferos



- Insectos: Mosquitos
- Aves
- Peces
- Anfibios

Humanos?

- Efecto inmunomodulador:**
- Favorece (exacerba) otros patógenos ?
 - Dificultad para su control

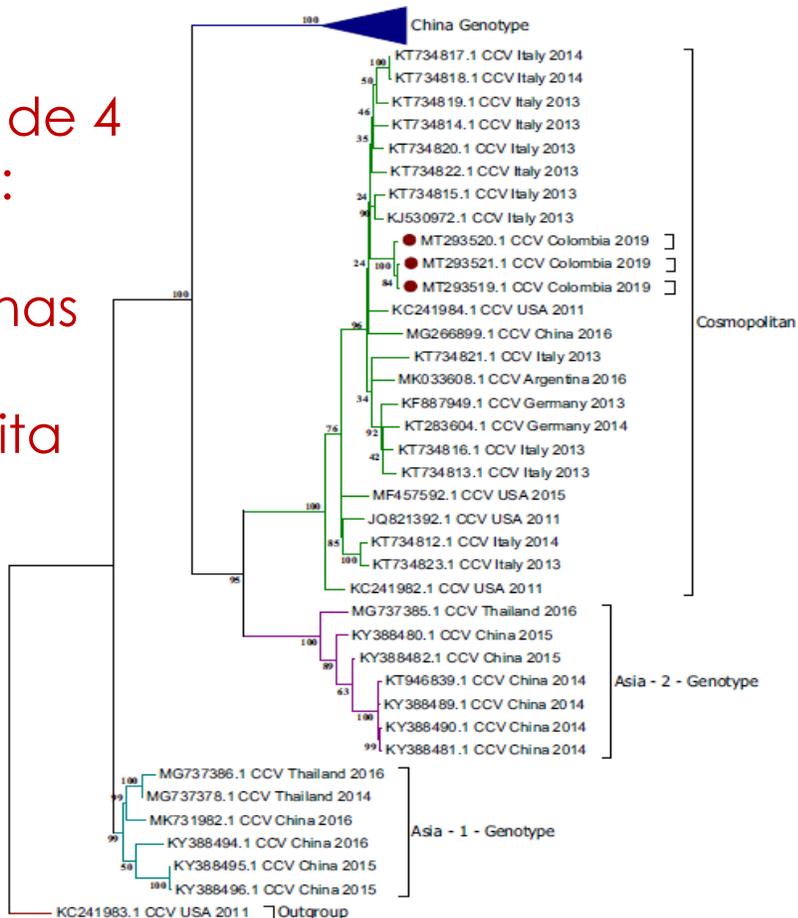
OPEN

First detection and full genomic analysis of Canine Circovirus in CPV-2 infected dogs in Colombia, South America

Sebastian Giraldo-Ramirez¹, Santiago Rendon-Marin¹, Diana S. Vargas-Bermudez², Jairo Jaime² & Julian Ruiz-Saenz¹

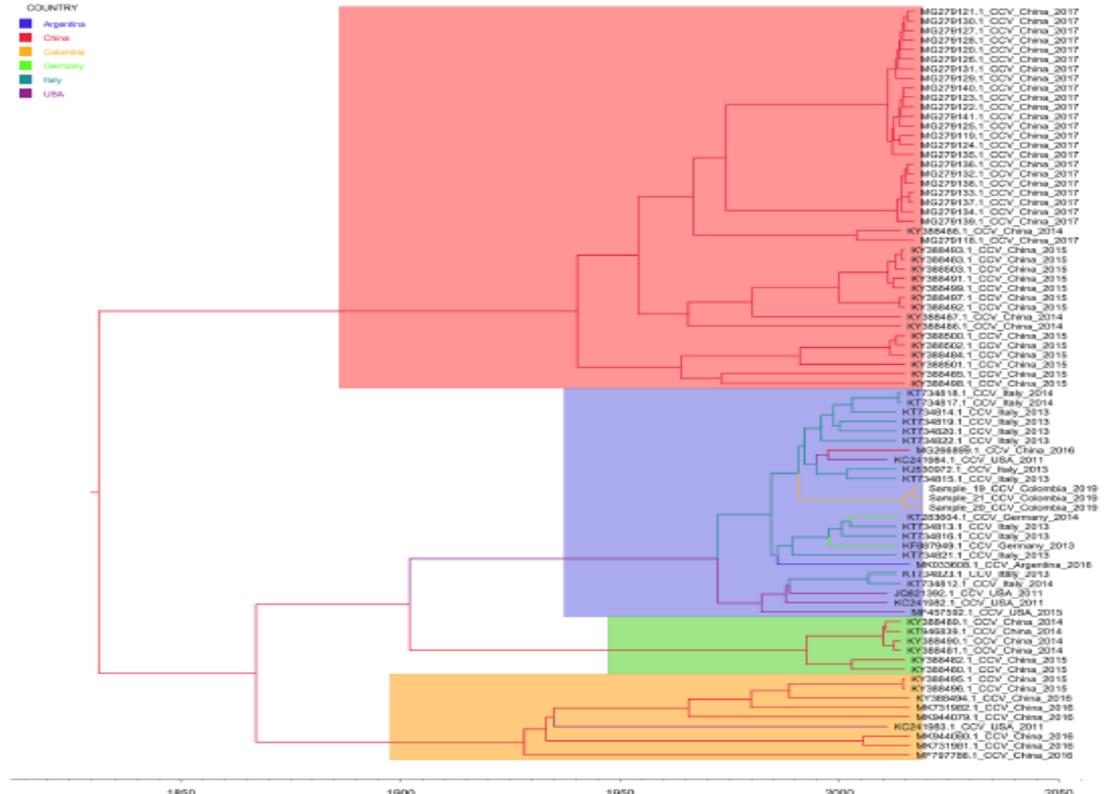
Check for updates

Presencia de 4 genotipos: cepas colombianas Genotipo cosmopolita



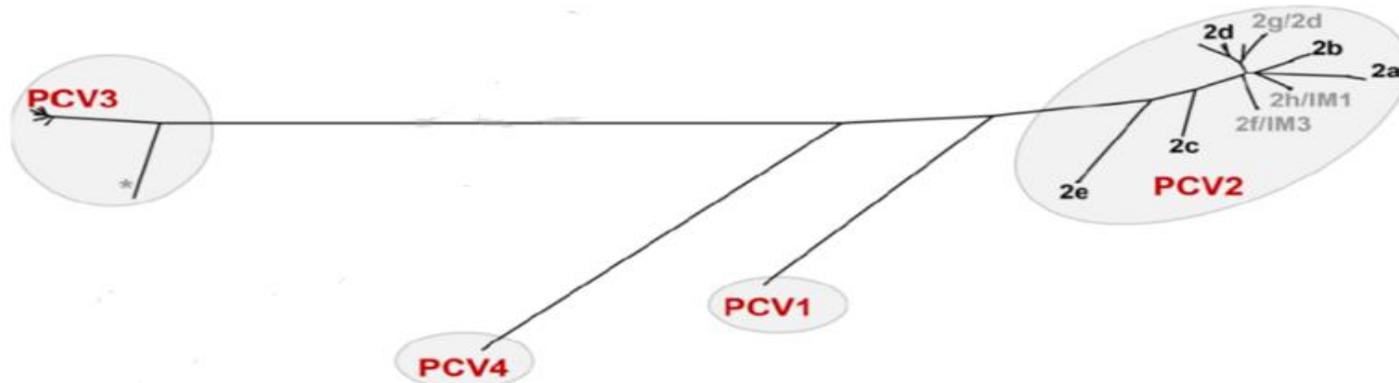
- 16.5% Circovirus canino (Antioquia y Bogotá)
- Animales en coinfección con parvovirus canino
- Signos de diarrea

Origen monofiletico "China " y posterior diseminación a Europa y Norte América
Origen de las cepas colombianas de Italia



Circovirus Porcinos:

- Existen 4 especies de circovirus porcino¹
- Varían de virulencia: NO patógenos, patógenos, patogénesis desconocida



Estudios retrospectivos: Indican presencia de PCV2 y PCV3 antes del primer reporte

PCV2: Desde 1962

PCV3: Desde 1993

Circovirus Porcino 1:1971

- No patógeno²
- Contaminante de cultivos celulares
- Baja prevalencia

Circovirus Porcino 2:1980-1990

- Patógeno³
- Diferentes síndromes de enfermedad
- Alta prevalencia

Circovirus Porcino 3:2016

- Patógeno⁴
- Enfermedad sistémica y reproductiva
- Alta prevalencia

Circovirus Porcino 4:2019⁵

- Patogénesis desconocida?
- Enfermedad respiratoria?
- China y Corea del Sur

1. Opriessnig T et al. 2020 Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. Virus research 185
2. Tisher I et al. 1986. A very small porcine virus with circular single-strand DNA. Nature 295: 64-66
3. Nayar G et al. 1997 Detection and characterization of porcine Circovirus associated with PMWS in pigs. Caandaian Veterinary Journal 38: 385-386
4. Klaumann et al. 2018. Frontiers in veterianry science; 5: 315
4. Zhang et al , 2019 Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. Transbound Emerg Dis.

Características de cada circovirus porcino



		PCV1	PCV2	PCV3	PCV4
Circulación	Year of discovery	1974	1997	2016	2019
	Circulation of the most recent ancestor	1907-1933	1907-1933	1802-2013	Not known
	Earliest detection from archived tissues/cell lines	1974	1962	1993	Not known
Tasa evolutiva	Evolutionary rate (substitutions/site/year)	1.15×10^{-5}	1.2×10^{-3}	2.35×10^{-5} , 1.22×10^{-4} or 1.69×10^{-3}	Not known
Genoma y Proteínas	Genome size (nt)	1758–1760	1766–1769	1999–2001	1770
	Rep protein (aa)	312	314	296-297*	296
	Rep' protein (aa)	168	297	Not known	Not known
	Cap protein (aa)	230-233	233-236	214	228
Aislamiento en cultivo	<i>First isolation in cell culture</i>				
	<i>Porcine kidney (PK) 15 cell line</i>	1974	1997	Not successful	Not successful
	<i>Swine testicle (ST) cell line</i>	Not known	2007	Not Successful	Not successful
	<i>Swine kidney (SK) cell line</i>	Not known	2009	Not known	Not known
	<i>Primary porcine kidney cells</i>	2006	2006	2020	Not known
	<i>Primary porcine hepatic cells</i>	2006	2006	Not known	Not known
Distribución y prevalencia	<i>Infectious clone first reported</i>	2003	2002	2019	
	<i>First experimental infection</i>				
	<i>Virus stock used</i>	1986	1998		
	<i>DNA clone used</i>	2002	2002	2019	
	Distribution	Global	Global	Global	China
Prevalence	Low	High	High	Not known	



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Origen, tasa evolutiva de los circovirus y diversidad genética



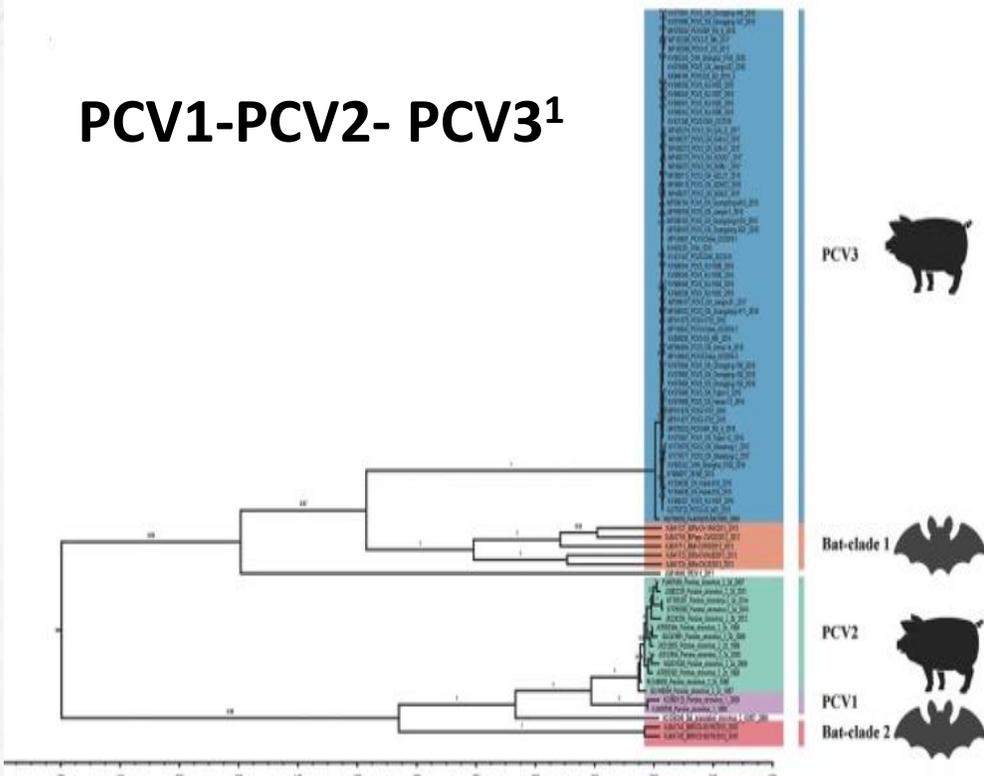
Origen y tasa evolutiva de los circovirus



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCV1, PCV2, PCV3 y PCV4: Circovirus encontrados en murciélagos

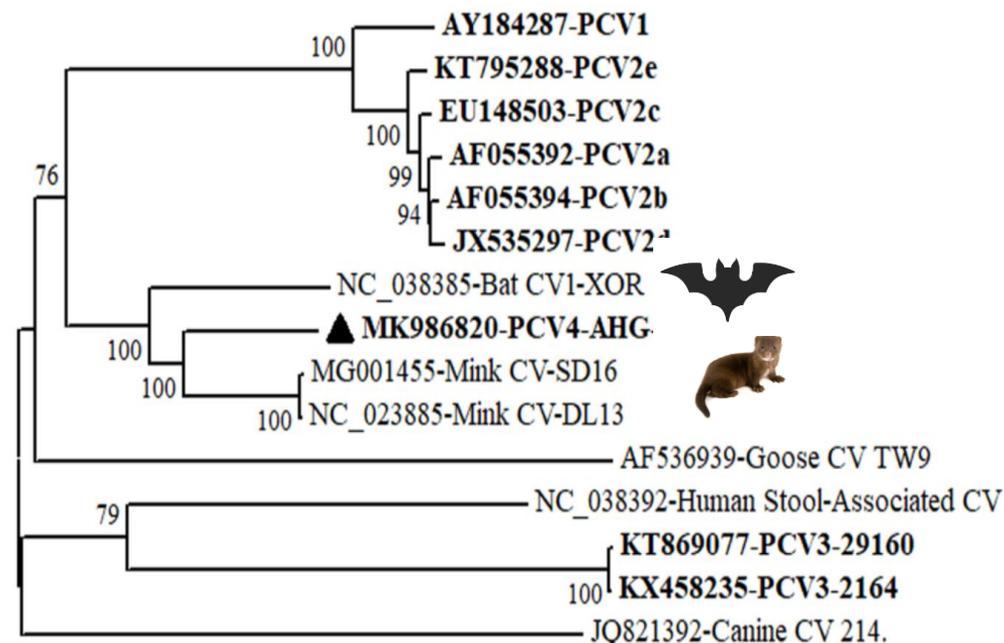
PCV1-PCV2- PCV3¹



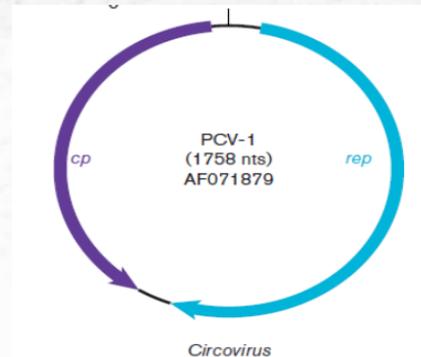
Ancestro PCV1 y PCV2:
Circula desde 1907-1933

Ancestro PCV3: Circula desde 1946-1987

PCV4²



1. Li G et al. Origin, Genetic Diversity, and Evolutionary Dynamics of Novel Porcine Circovirus 3. *Advance science*
2. Zhan et al. 2019 Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as Porcine circovirus 4, Hunan province, China. *Transboundary and emerging Disease*



Comparación genoma de los circovirus

Nuevos circovirus muy diferentes a PCV2

Genoma Completo	PCV1	PCV2	PCV3	PCV4
PCV1		78%	47%	50,3%
PCV2	78%		48%	51,5%
PCV3	47%	48%		43,2%
PCV4	50,3%	51,5%	43,2%	

Proteína Cap	PCV1	PCV2	PCV3	PCV4
PCV1		67%	24%	43,1%
PCV2	67%		26-37%	45%
PCV3	24%	26-37%		24,5%
PCV4	43,1%	45%	24,5%	

Proteína más inmunogénica:
Inmunidad cruzada?

PCV1: Genoma 1758-1760 nucleótidos



**Tasa evolutiva 10⁵,
substituciones/sitio/año**

PCV2: Genoma 1999 nucleótidos



**Tasa evolutiva 10⁻³,
substituciones/sitio/año**



Emergencia de variantes en el tiempo

PCV3: Genoma 2001 nucleótidos



**Tasa evolutiva 10⁻⁵ - 10⁻³
substituciones/sitio/año**

PCV4: Genoma 1770 nucleótidos

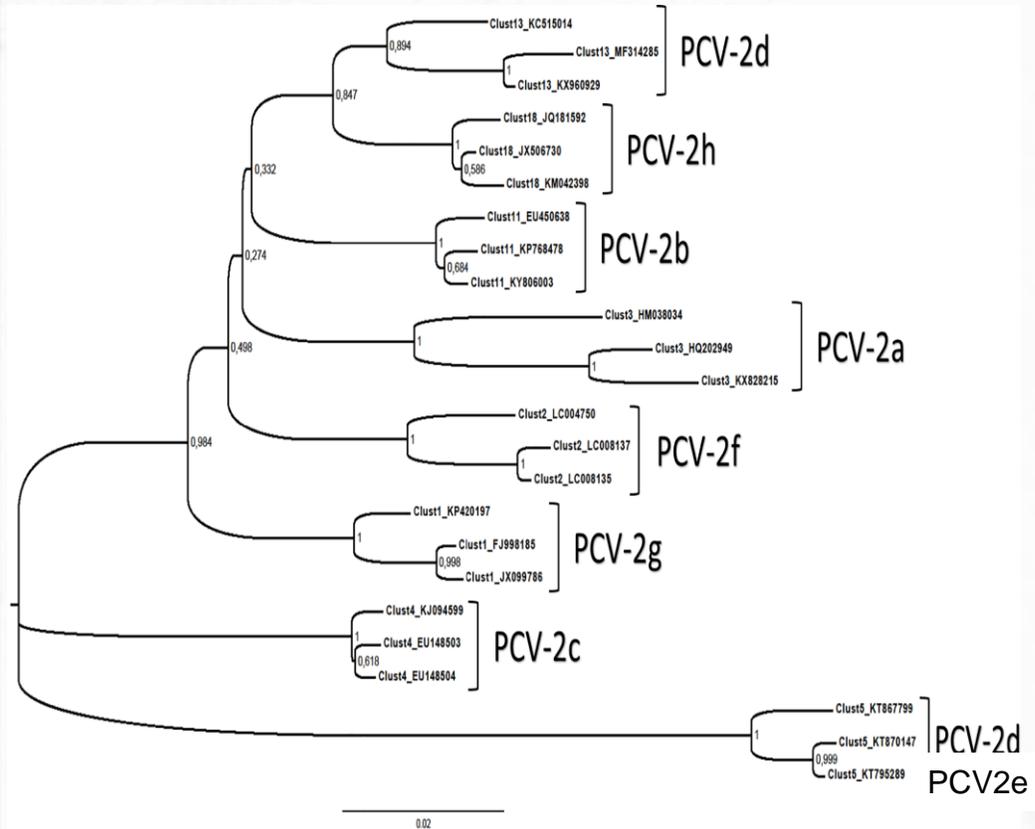
PCV2: Alta diversidad genética

Ocho genotipos: PCV2a-PCV2h¹

Variaciones en la secuencia de nucleótidos de la secuencia Cap permitió clasificar los genotipos: distancia intra genotipo 13%

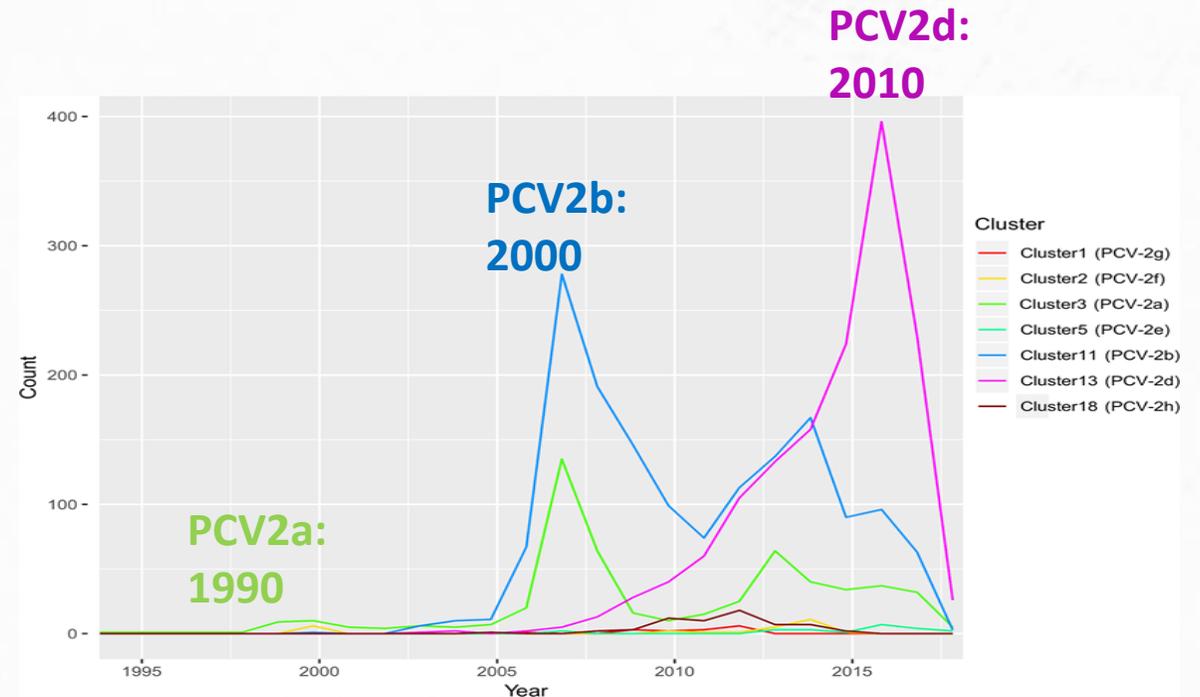


porkaméricas
XX congreso internacional
2022



2021: USA-PCV2i²

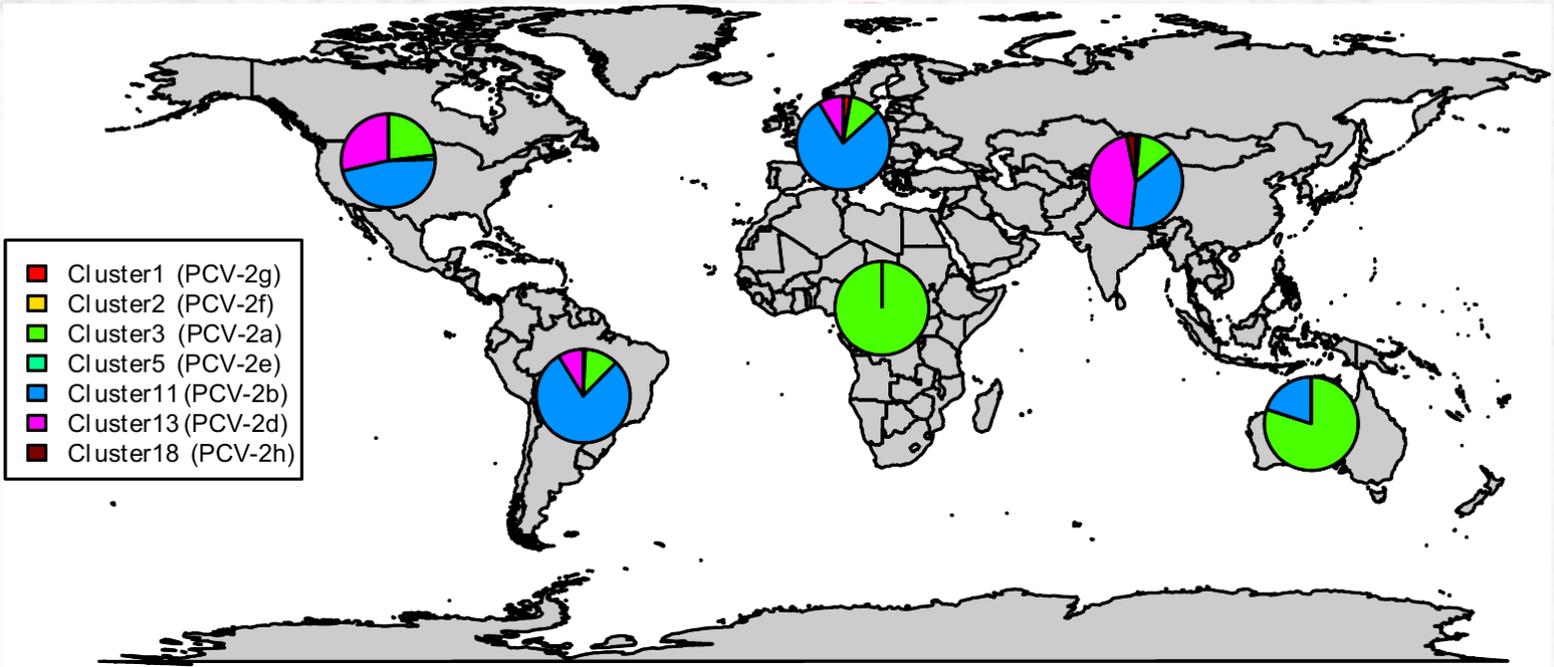
Cambios en la prevalencia de genotipos en el tiempo “genotype shift”



El primer cambio de genotipo es ligeramente anterior a la vacunación generalizada contra PCV2, mientras que el segundo cambio ocurre en presencia de una vacunación generalizada.

1. Franzo G and Segales J. PCV2 genotype update and proposal of a new genotyping methodology. Plos One 2018
2. Wang, Y.; et al. Genetic diversity and prevalence of porcine circovirus type 3 (PCV3) and type 2 (PCV2) in the Midwest of the USA during 2016–2018. Transbound. Emerg. Dis. 2020, 67, 1284–1294.

PCV2: Distribución y prevalencia



Genotype	Africa	Asia	Europe	North America	Oceania	South America	Total
PCV-2a	1 (100%)	299 (12.6%)	50 (10,39%)	301 (22.69%)	8 (80%)	16 (11.67%)	675 (15,63%)
PCV-2b	0 (0%)	886 (37.51%)	374 (77,75%)	614 (46.30%)	2 (20%)	108 (78.83%)	1984 (45,94%)
PCV-2c	0 (0%)	0 (0%)	3 (0,62%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,724)	4 (0,09%)
PCV-2d	0 (0%)	1065 (45.08%)	41 (8,52%)	373 (28.13%)	0 (0%)	12 (8.75%)	1491 (34,52%)
PCV-2e	0 (0%)	2 (0.08%)	0 (0%)	20 (1.50%)	0 (0%)	0 (0%)	22 (0,50%)
PCV-2f	0 (0%)	25 (1.05%)	1 (0,20%)	9 (0.67%)	0 (0%)	1 (0.72%)	36 (0,83%)
PCV-2g	0 (0%)	10 (0.42%)	12 (2,49%)	9 (0.67%)	0 (0%)	0 (0%)	31 (0,71%)
PCV-2h	0 (0%)	75 (3.17%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	75 (1,73%)
Total	1 (100%)	2362 (100%)	481 (100%)	1326 (100%)	11 (100%)	137 (100%)	4318 (100%)

Cerdos domésticos y salvajes

PCV3: Baja diversidad genética

Homología entre genomas PCV3: 97%

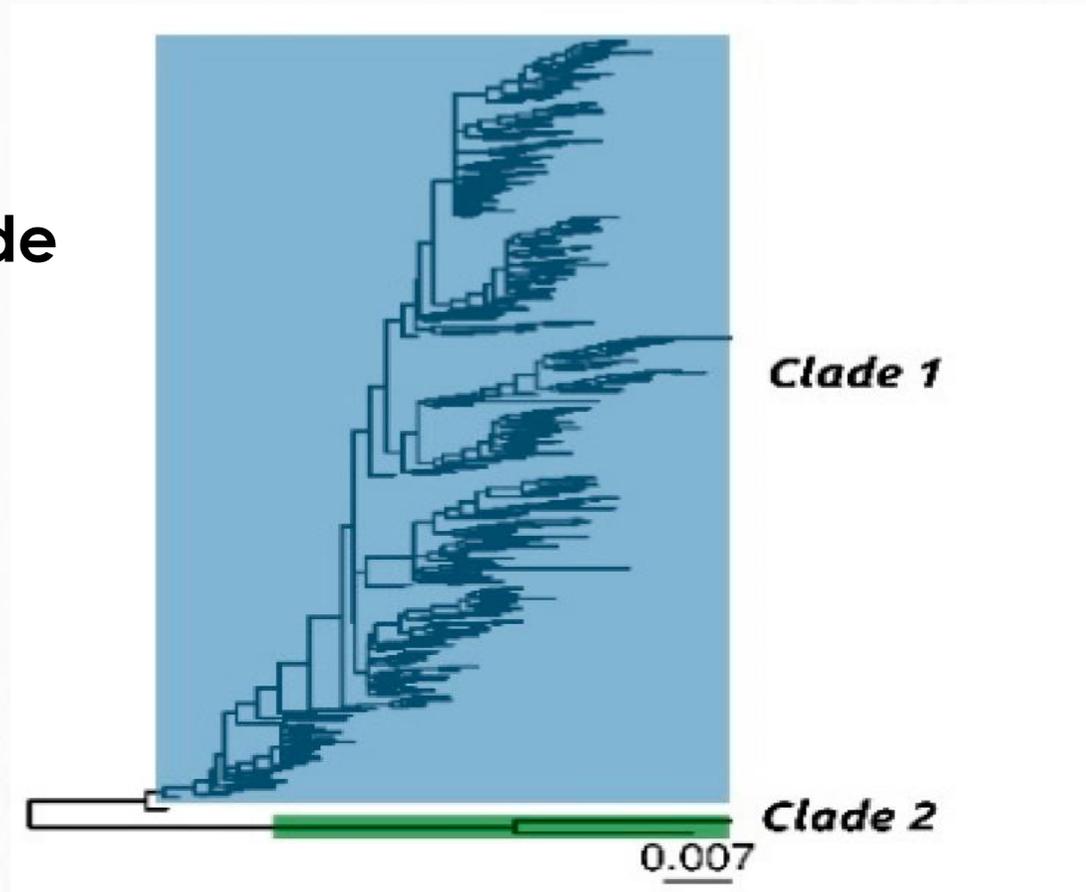


porkaméricas
XX congreso internacional
2022

2020

Clada 1-PCV3a: Secuencias de diferentes países

Clada 2-PCV3b: Secuencias colectadas en China en 2006

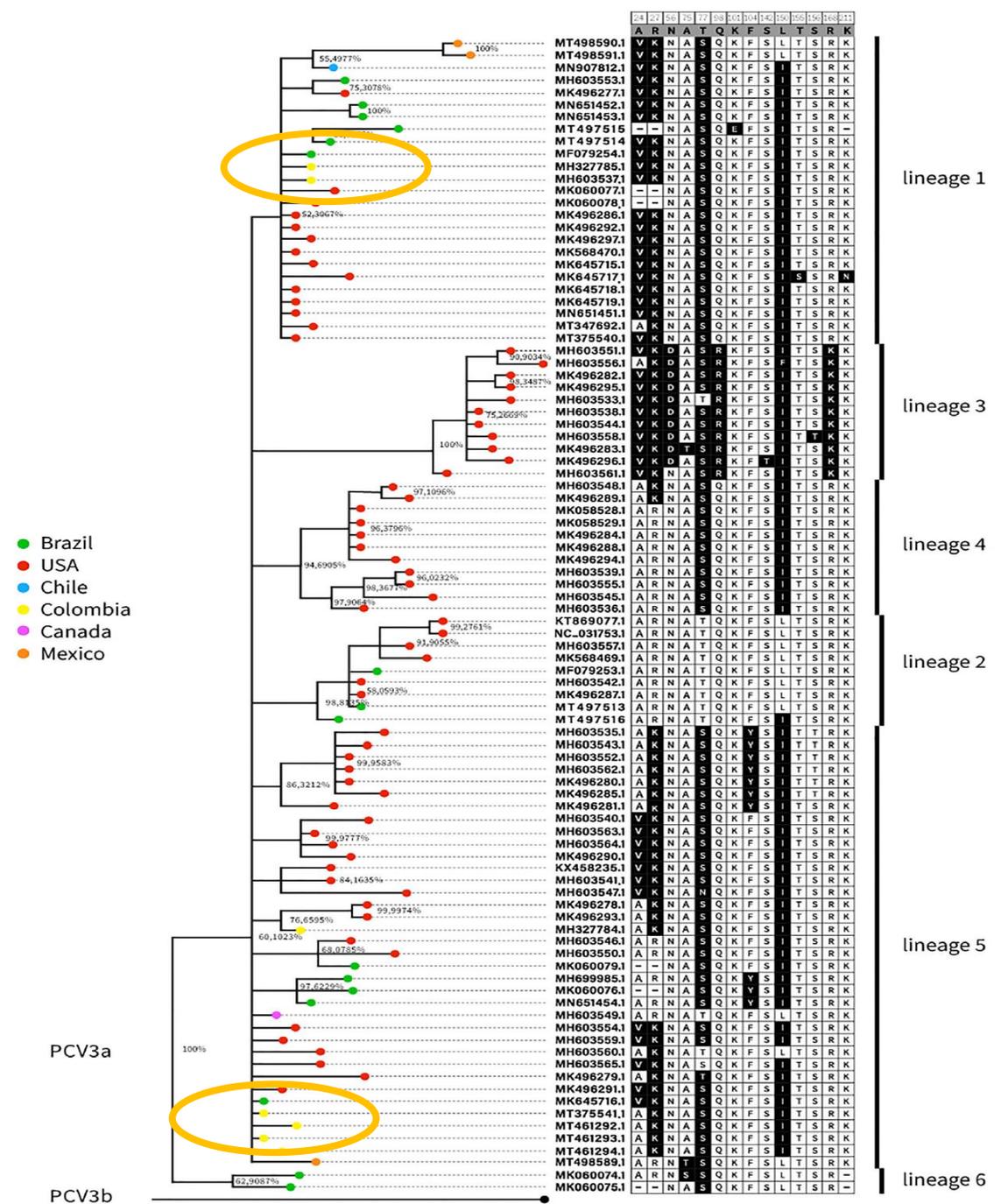


Porcine circovirus 3 in North and South America: Epidemiology and genetic diversity

**Análisis basados en proteína Cap:
Clada 1-PCV3: presenta 6 linajes basados en los patrones diferentes de aminoácidos**

PCV3 Colombia: linaje 1 y linaje 5

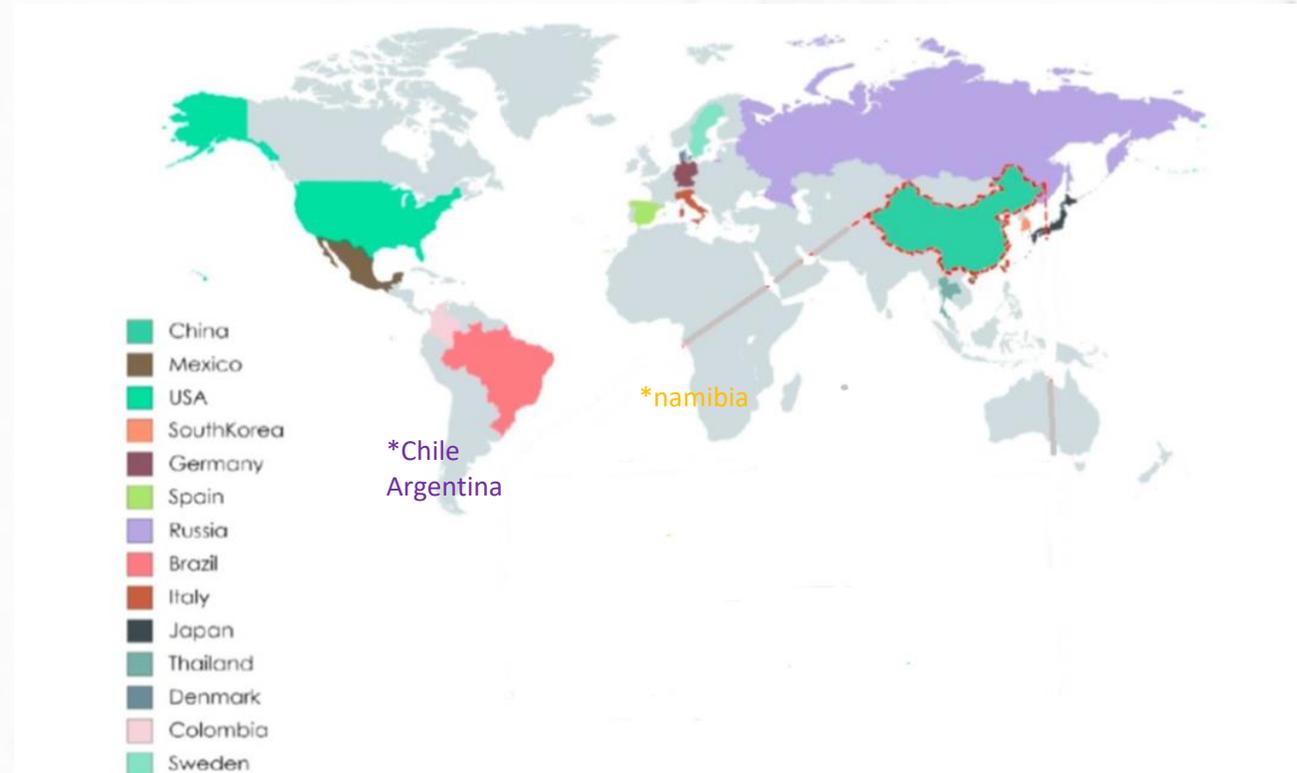
Sisdelli Assao et al. 2021. Porcine circovirus 3 in North and South America: Epidemiology and genetic diversity. Transboundary and emerging diseases





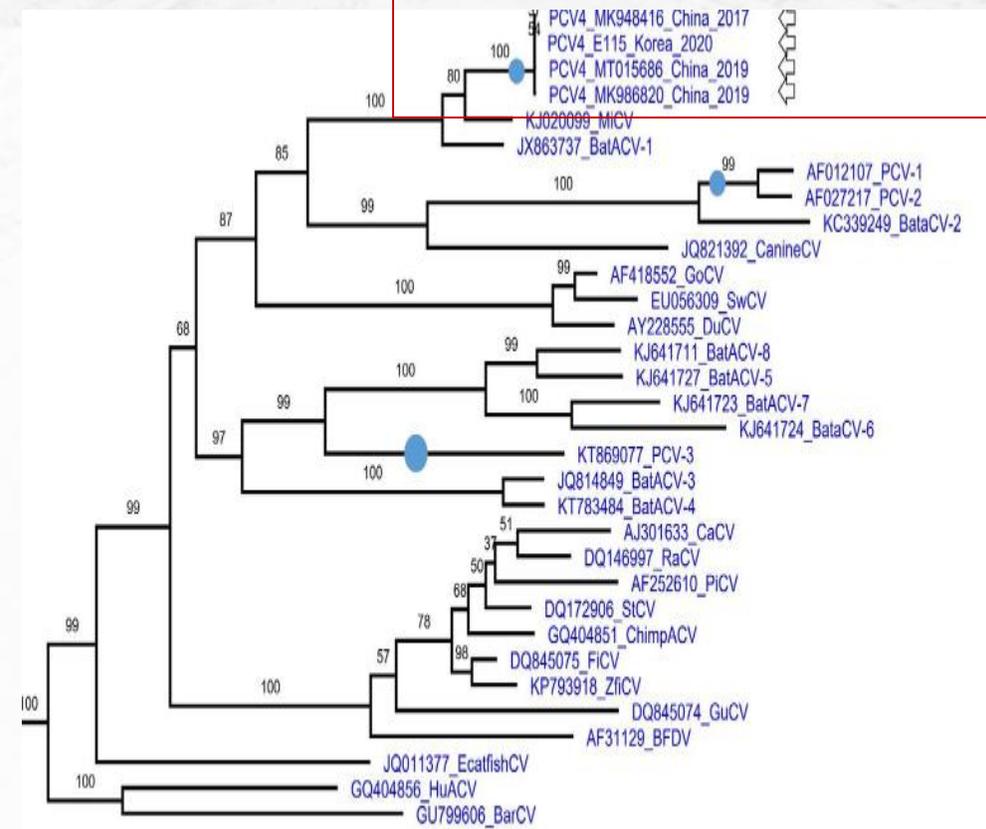
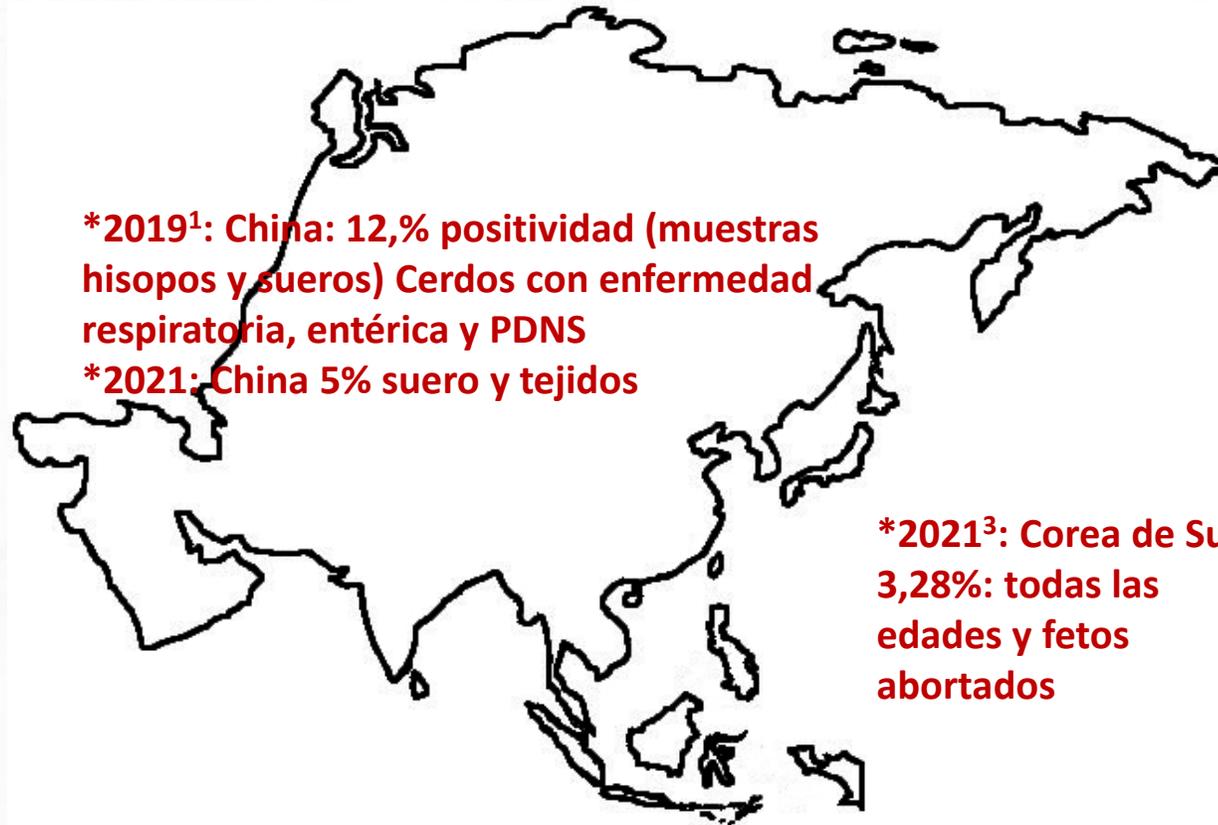
PCV3: Distribución y prevalencia

- Detección de PCV3 - ADN en cerdos domésticos y salvajes
- Detección de PCV3 - ADN en diferentes edades: Lactantes, preceba, ceba, cría
- Detección de PCV3 - ADN
 - a. Cerdos clínicamente sanos
 - b. Cerdos con diferentes síntomas



PCV4: prevalencia, distribución y diversidad genética

Prevalencia: 3,28-12% : Sueros, Hisopos nasales, tejidos animales con enfermedad respiratoria y reproductiva



Lack of *Porcine circovirus 4* Genome Detection in Pig Samples from Italy and Spain

Giovanni Franzo ^{1,*}, Albert Ruiz ², Laura Grassi ¹, Marina Sibila ^{2,3}, Michele Drigo ¹ and Joaquim Segalés ^{3,4,5}

1. Zhang. Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as PCV4. Hunan province, China.2019. *Transboundary and emerging disease*
2. Sun W. 2021 Detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 in Guangxi, China. *Gene*
3. Nguyen V. 2021.Molecular-based detection, genetic characterization and phylogenetic analysis of PCV4 from Korean domestic swine farms. *Transboundary and emerging disease*



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCV- Evolución en Colombia



PCV2- Colombia evolución

Rincón Monroy et al. *Virology Journal* 2014, **11**:143
<http://www.virologyj.com/content/11/1/143>



VIROLOGY JOURNAL

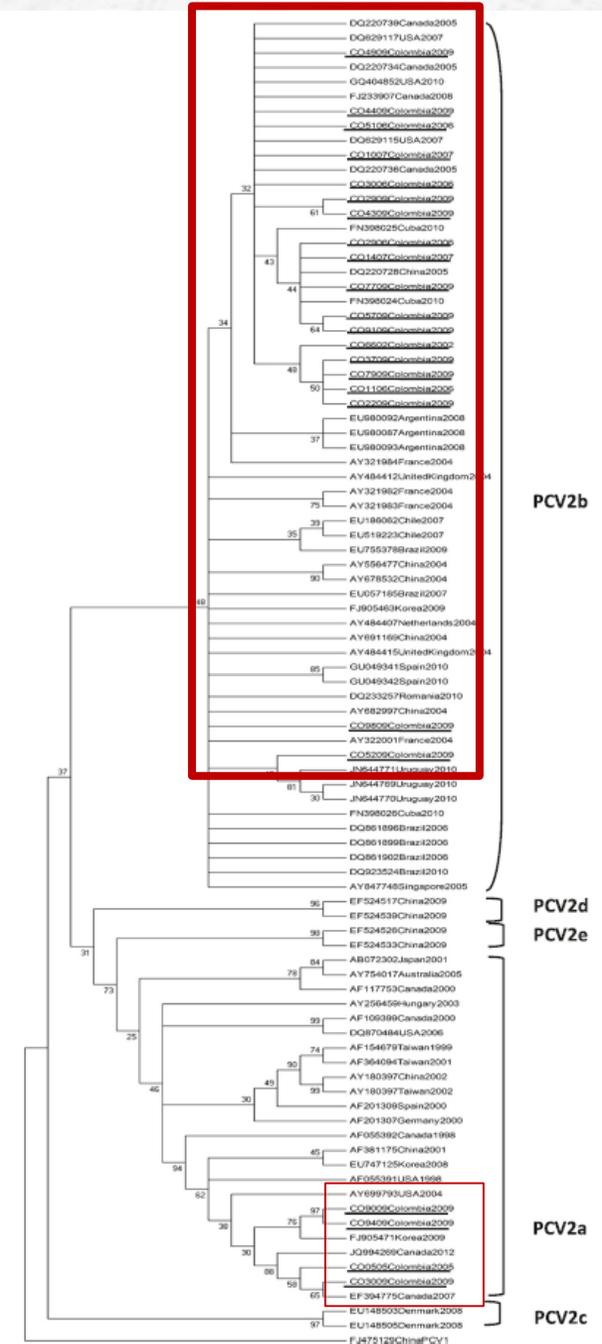
RESEARCH

Open Access

Detection and molecular characterization of porcine circovirus type 2 from piglets with Porcine Circovirus Associated Diseases in Colombia

María Antonia Rincón Monroy^{1,2*}, Gloria Consuelo Ramirez-Nieto², Victor Julio Vera², Jairo Jaime Correa² and Jose Dario Mogollón-Galvis²

Evaluación de muestras 2002-2010 de diferentes regiones del país: 23 secuencias
PCV2b: 19 secuencias
PCV2a: 4 secuencias



First detection of porcine circovirus type 3 in Colombia and the complete genome sequence demonstrates the circulation of PCV3a1 and PCV3a2

Diana S. Vargas-Bermudez*, Fabricio S. Campos†, Laura Bonil*, Darío Mogollon* and Jairo Jaime* 

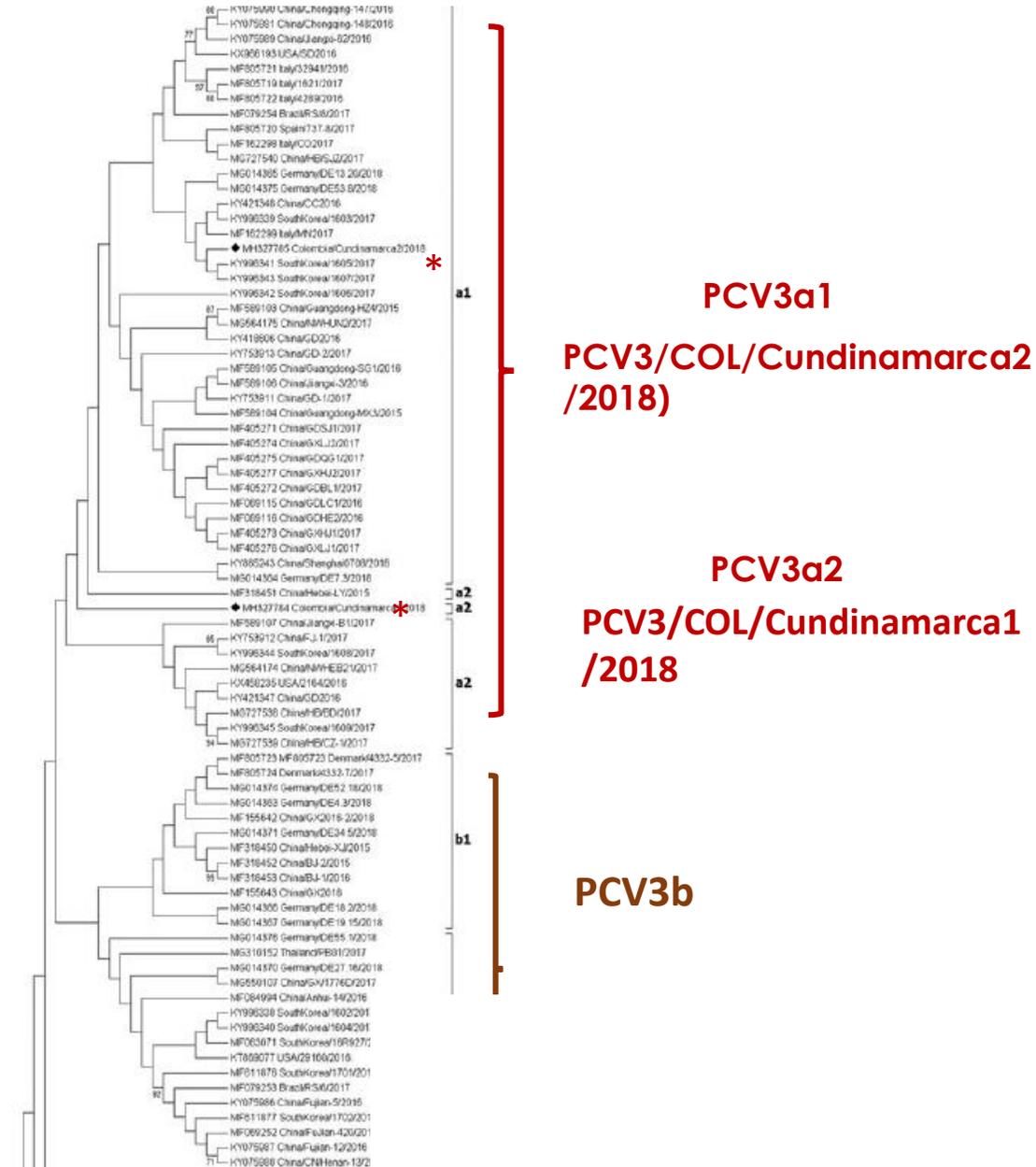
Granjas Cundinamarca: 2

- SxCx. Compatibles PCV2-PDNS
- Control PCV2: vacunación

Detección PCV2-ADN: negativo

Detección PCV3-ADN: positivo

Sampling population	Tissue type	PCV3 molecular detection rate
PDNS case	Lung, mesenteric ganglia	25% (one out of four)*mesenteric ganglia
Serum pools from 3, 7, 10, 13, 16, 20 weeks old pig	Serum pool 19 weeks +	16.67% (one out of six pool)



Article
The prevalence and genetic diversity of PCV3 and PCV2 in Colombia and PCV4 survey during 2015-2016 and 2018-2019

Diana S. Vargas-Bermudez¹, José Darío Mogollón¹ and Jairo Jaime^{1*}

Muestras

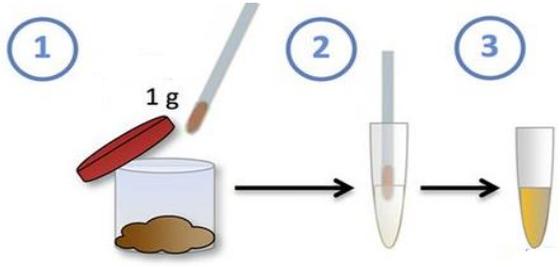
**Periodo A
2015-2016**

32 departamentos
Banco muestras DNA

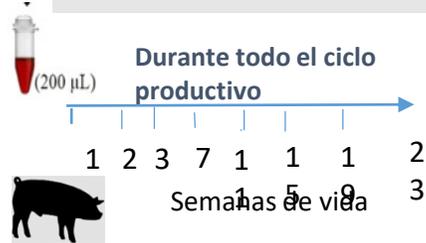
**Periodo B
2018-2019**

Cinco regiones
(11 granjas)
Antioquia
Cundinamarca
Eje cafetero
Caribe
Valle

Muestra: Materia fecal Total = 745 pooles de hisopos



Muestras: Suero y tejidos



Total=
108 pooles sueros
19 tejidos reproductivos

**Detección molecular (PCR):
PCV2
PCV3
PCV4**



Estudios filogenéticos

Periodo A. 2015-2016

Table 1. Prevalence of PCV3, PCV2 and PCV4 and co-infections between them during period A of the study (2015-2016) in the 32 provinces of Colombia.

Province	PCV3	PCV2	PCV4	PCV2 / PCV3 Co-infection
Amazonas	0/5 (0)*	1/5 (20)*	0/5 (0)*	0/9 (0)#
Antioquia	0/72 (0)	8/72 (11.1)	0/72 (0)	0/9 (0)
Arauca	0/17 (0)	1/17 (5.88)	0/17 (0)	0/9 (0)
Atlántico	1/7 (14.2)	2/7 (28.5)	0/7 (0)	1/9 (11.1)
Boyacá	0/38 (0)	2/38 (5.26)	0/38 (0)	0/9 (0)
Bolívar	0/35 (0)	4/35 (12.5)	0/35 (0)	0/9 (0)
Caldas	0/16 (0)	3/16 (18.75)	0/16 (0)	0/9 (0)
Caquetá	0/34 (0)	9/34 (26.4)	0/34 (0)	0/9 (0)
Casanare	0/21 (0)	0/21 (0)	0/21 (0)	0/9 (0)
Cauca	2/9 (22.2)	1/9 (11.1)	0/9 (0)	0/9 (0)
Cesar	0/26 (0)	0/26 (0)	0/26 (0)	0/9 (0)
Chocó	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/9 (0)
Córdoba	2/80 (2.5)	4/80 (5)	0/80 (0)	0/9 (0)
Cundinamarca	2/49 (4)	13/49 (26.5)	0/49 (0)	0/9 (0)
Guainía	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/9 (0)
Guajira	0/20 (0)	3/20 (15)	0/20 (0)	0/9 (0)
Guaviare	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/9 (0)
Huila	0/26 (0)	0/26 (0)	0/26 (0)	0/9 (0)
Magdalena	0/22 (0)	1/22 (4.5)	0/26 (0)	0/9 (0)
Meta	0/2 (0)	1/2 (50)	0/2 (0)	0/9 (0)
Nariño	1/62 (1.61)	1/62 (1.6)	0/62 (0)	0/9 (0)
Norte Santander	0/72 (0)	5/72 (6.9)	0/72 (0)	0/9 (0)
Putumayo	0/11 (0)	1/11 (9)	0/11 (0)	0/9 (0)
Quindío	0/2 (0)	0/2 (0)	0/2 (0)	0/9 (0)
Risaralda	0/3 (0)	1/3 (33.3)	0/3 (0)	0/9 (0)
San Andrés	1/5 (20)	1/5 (20)	0/5 (0)	0/9 (0)
Santander	0/23 (0)	0/23 (0)	0/23 (0)	0/9 (0)
Sucre	0/32 (0)	6/32 (18.75)	0/32 (0)	0/9 (0)
Tolima	0/34 (0%)	1/34 (2.9)	0/34 (0)	0/9 (0)
Valle	0/9 (0%)	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
Vaupés	0/6 (0%)	0/6 (0)	0/6 (0)	0/9 (0)
Vichada	0/5 (0%)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/9 (0)
Total	9/755 (1.19%)	69/755 (9.13%)	0/755 (0%)	1/9 (11.1%)

Periodo B. 2018-2019

Table 2. Prevalence of PCV3, PCV2, PCV4 and co-infections between them during period B of the study (2018-2019) in the five provinces with the highest technical production of pork in Colombia.

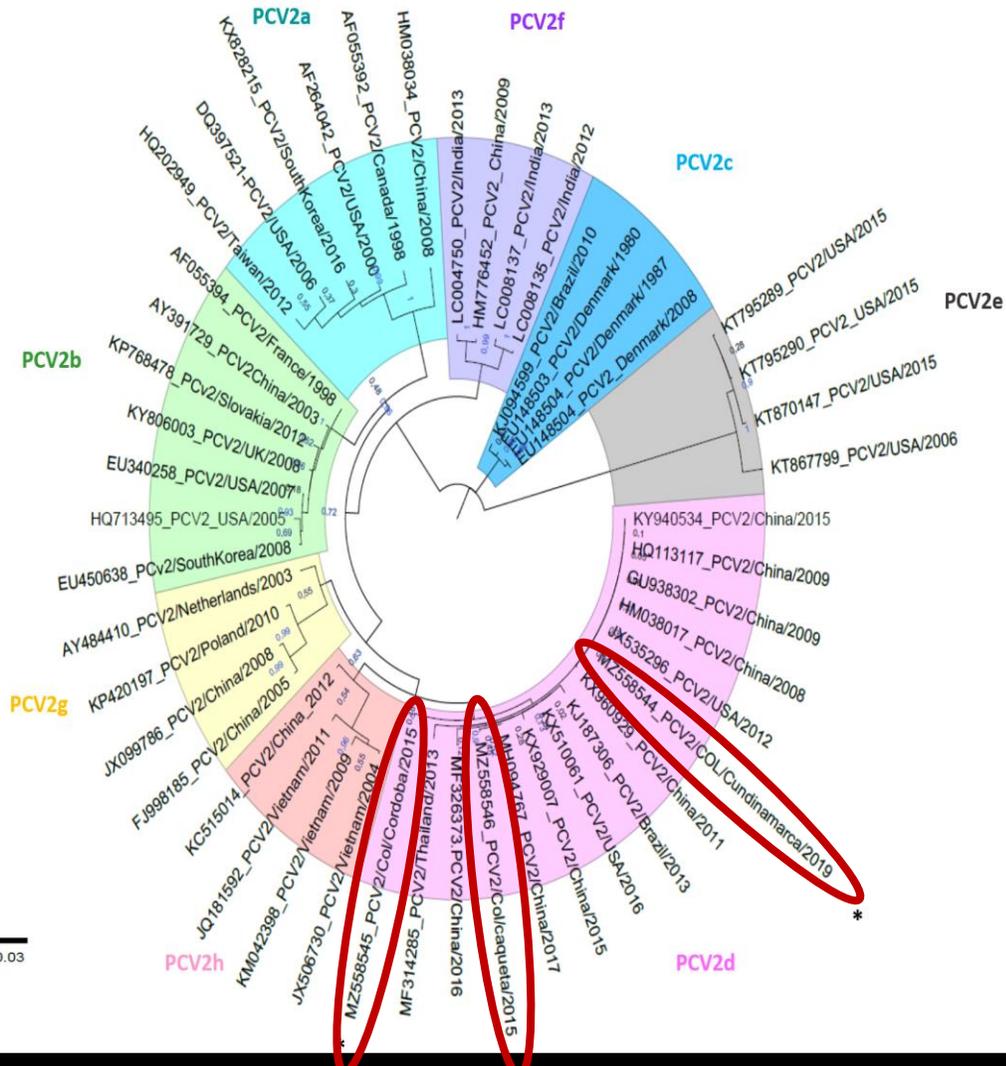
Province	PCV3		PCV2		PCV4		PCV2 / PCV3 Co-infection	
	Sera pools	Tissues§	Sera pools	Tissues	Sera pools	Tissues	Sera pools	Tissues
Antioquia	3/9 (33)*	2/2 (100)*	0/9 (0)#	0/2 (0)#	0/9 (0)¤	0/2 (0)¤	0/47 (0)¶	0/10 (0)¶
Atlántico	14/26 (54)	4/5 (80)	5/26 (19)	0/5 (0)	0/26 (0)	0/5 (0)	1/47 (1.7)	0/10 (0)
Cundinamarca	13/32 (41)	2/6 (33)	7/32 (22)	0/6 (0)	0/32 (0)	0/6 (0)	2/47 (3.5)	0/10 (0)
Risaralda	7/24 (29)	2/4 (50)	0/24 (0)	0/4 (0)	0/24 (0)	0/4 (0)	0/47 (0)	0/10 (0)
Valle	10/17 (59)	0/2 (0)	0/17 (0)	0/2 (0)	0/17 (0)	0/2 (0)	0/47 (0)	0/10 (0)
Total	47/108 (43.5%)	10/19 (52.6%)	12/108 (11.11%)	0/19 (0%)	0/108 (0%)	0/19 (0%)	3/47 (6.38%)	0/10 (0%)

PCV2:

3 secuencias ORF2 y genoma completo:

Periodo A: 2 secuencias

Periodo B: 1 secuencias



Geográficamente

Caquetá: 1 secuencias

Córdoba: 1 secuencias

Cundinamarca: 1 secuencia

Secuencias colombianas: identidad de 99,1 - 99,3%,

El análisis filogenético indicó que las cepas colombianas de PCV2 pertenecían a PCV2d

PCV3:

9 secuencias genoma completo:

Periodo A: 2 secuencias

Periodo B: 7 secuencias

Geográficamente

Cundinamarca: 2 secuencias

Risaralda: 2 secuencias

Atlántico, Valle del cauca, Magdalena,

Nariño y Antioquia: 1 secuencia C/U

Secuencias colombianas

identidad de nucleótidos del 99,14

al 99,9 %

Ubicación en clado 1 (PCV3a)

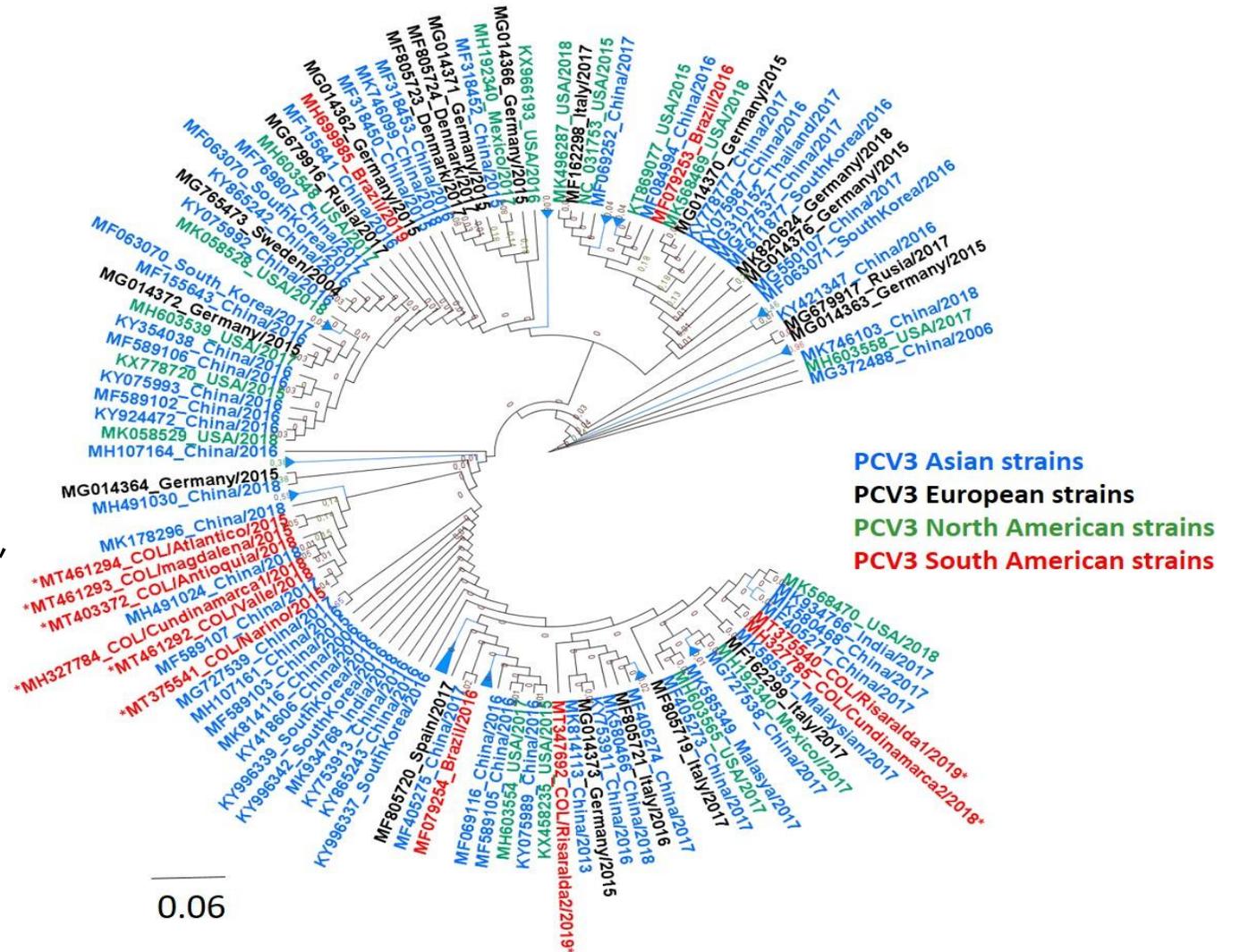
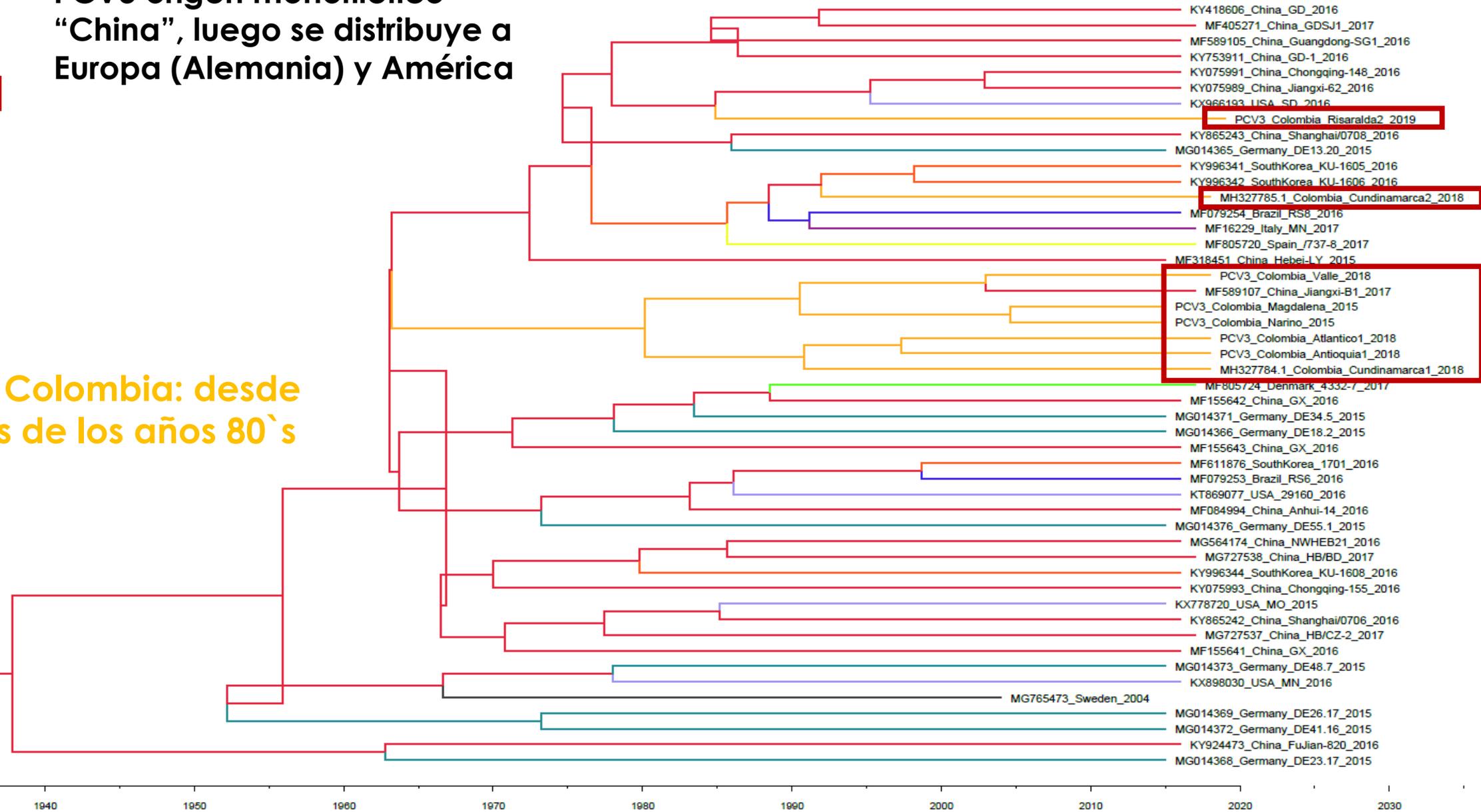


Figure 1. Phylogenetic analysis of PCV3 strains circulating in Colombia during 2015-2019. The phylogenetic tree was constructed by ML analysis using the Tamura-Nei model with gamma distribution with tree topology evaluated with 1000 bootstrap replicates. The sequences generated in this study were labeled in red with *. In addition, the 136 PCV3 complete genomes published in GenBank were included for the phylogenetic analysis.

PCV3 origen monofilético "China", luego se distribuye a Europa (Alemania) y América

- COUNTRY
- Brazil
 - China
 - Colombia
 - Denmark
 - Germany
 - Italy
 - SouthKorea
 - Spain
 - Sweden
 - USA

PCV3 Colombia: desde
finales de los años 80`s





porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Síndromes clínicos en circovirus, coinfecciones y diagnóstico



Síndromes clínicos reportados en los circovirus porcinos



	PCV1		PCV2		PCV3		PCV4	
	Field observation	Experimental reproduction						
Reproductive	?	○	●	●	●			
Respiratory	○	○	●	●	●		●	
Enteric	○	○	●	●	○		●	
Systemic	○	○	●	●	●			
PDNS	○	○	●	●	●	●	●	
CNS	?	?	?	○	●			

Disease syndrome association: (?) available data not conclusive, (○) none, (●) association, (no symbol/empty cell) no reports to date.

PCV2: enfermedades asociadas al circovirus porcino-PCVD



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

- Forma más común
- Disminución ganancia de peso diaria (aprox. 10-40gr/día)
- No hay signos clínicos evidentes

- Desmedro, pérdida de peso, disminución en la ganancia de peso clínicamente evidente
- A veces signos respiratorios (**PCV2-respiratorio**) o digestivos (**PCV2-entérico**)
- **Presentación en animales vacunados?**



PCV2 enfermedad sistémica: PCV2-SD



PCV2-infección subclínica:PCV2-SI

Síndrome de dermatitis y nefropatía porcina-PDNS

Pápulas y maculas en piel principalmente en miembros y área perineal



PCV2 enfermedad reproductiva: PCV2-RD

- Abortos o momias
- Retorno irregular al estro
- Menor presentación: inmunidad hato en las cerdas



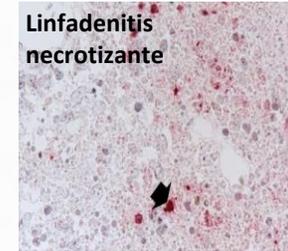
Coinfección con otros patógenos

PCV2: diagnóstico



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCVD	Diagnóstico individual
PCV2-infección subclínica: PCV2-SI	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ausencia de signos clínicos manifiestos. 2. Lesiones histopatológicas nulas o mínimas en los tejidos (principalmente linfoides) 3. Baja cantidad de PCV2 en pocos tejidos (linfoides), generalmente en áreas foliculares
PCV2 enfermedad sistémica: PCV2-SD	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pérdida de peso y palidez de la piel (signos clínicos respiratorios y/o digestivos) 2. Depleción de linfocitos de moderada a severa con inflamación granulomatosa de los tejidos linfoides (más inflamación granulomatosa en otros tejidos) 3. Cantidad moderada a alta de PCV-2 en tejidos linfoides (la cantidad en el resto de tejidos afectados puede ser variable)
PCV2 enfermedad reproductiva- PCV2-RD	<p>Abortos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fallo reproductivo o SMEDI 2. Miocarditis fibrosa a necrotizante de fetos 3. Cantidad moderada a alta de PCV2 en el corazón <p>Retorno irregular al estro</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Seroconversión de PCV2 después del regreso al celo 2. Positividad PCV2 qPCR alrededor ocurrencia de retorno al estro
PCV2: Síndrome de dermatitis y nefropatía porcina-PDNS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Lesiones cutáneas hemorrágicas y necrotizantes y riñones pálidos con Petequias corticales generalizadas 2. Vasculitis necrotizante sistémica y vasculitis necrotizante y glomerulonefritis fibrinosa



Cuantificación PCV2:

qPCR (PCR en tiempo real o cuantitativa)

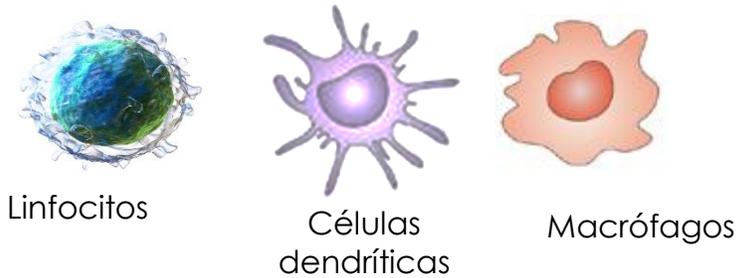


Diferencia animales:

PCV2-SI (Cargas virales <math>< 10^5 </math>)
versus
PCV2 SD (Cargas virales >math>\geq 10^5 </math>)

PCV2 y las coinfecciones

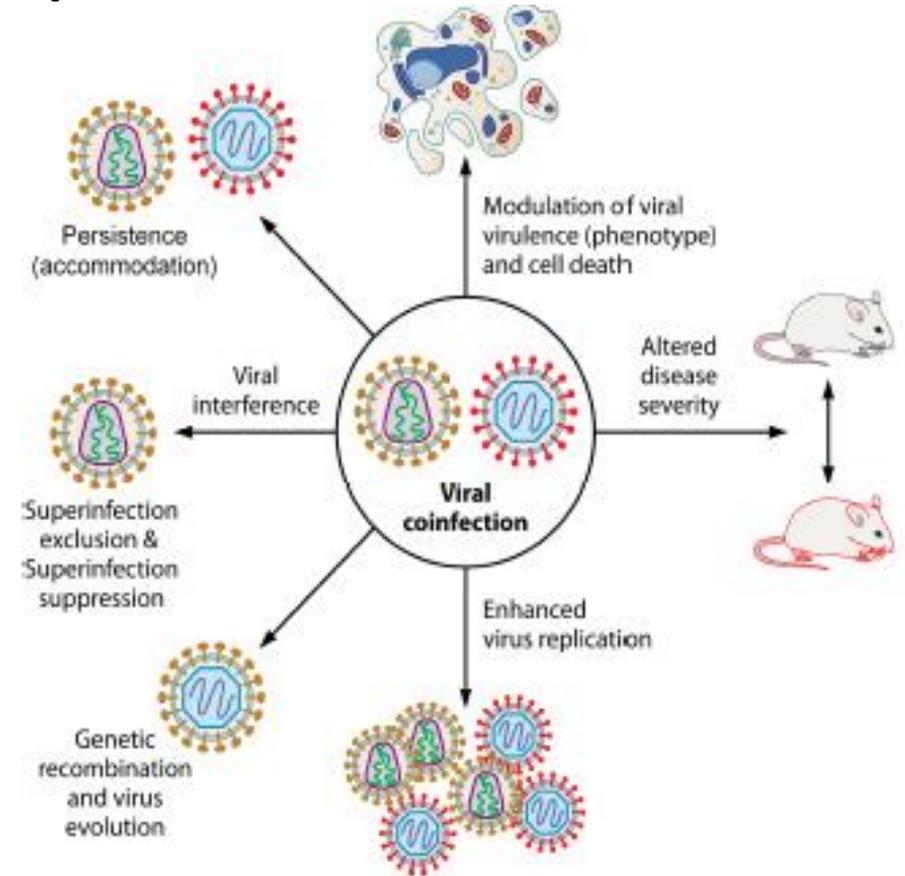
PCV2 tiene tropismo por células de sistema inmune



Inmunosupresor

PCV2 y PCV3 se han encontrado en coinfecciones con diferentes patógenos: virus y bacterias

Resultado de las coinfecciones en el huésped¹:



1. Kumar N et al. *Virological and Immunological Outcomes of Coinfections*. *Clinical microbiology reviews* 2018

2. Saade G et al. *Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract*. *Veterinary research* 2020

CASE REPORT

Open Access

Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3)

Diana S. Vargas-Bermúdez, Mayra A. Vargas-Pinto, José Darío Mogollón and Jairo Jaime*



Suero de cerdas de reemplazos y madres

Coinfecciones: PCV2 + PCV3: 12/50 (24%)
 PCV2 + PPV7: 5/50 (10%)
 PCV2 + PCV3 + PPV7: 1/50 (2%)



Article
The prevalence and genetic diversity of PCV3 and PCV2 in Colombia and PCV4 survey during 2015-2016 and 2018-2019

Diana S. Vargas-Bermudez¹, José Darío Mogollón¹ and Jairo Jaime^{1*}

Materia fecal y sueros de cerdos de diferentes edades

Año	PCV2 positive /total (%)	PCV3 positive/total (%)	Coinfection PCV2+PCV3 positive/total (%)
2015-2016 Materia fecal	69 / 755 (9,13%)	9 / 755 (1,19%)	1/9 (11,1%)
2018-2019 Sueros tejidos	12 / 108 (11,1%) 0 / 19 (0%)	47 / 108 (43,5%) 10 / 19 (52,6%)	3 / 47 (6,38%) 0 / 19 (0%)

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

The first report of porcine parvovirus 7 (PPV7) in Colombia demonstrates the presence of variants associated with modifications at the level of the VP2-capsid protein

Diana S. Vargas-Bermudez¹, Santiago Rendon-Marin², Julian Ruiz-Saenz², Darío Mogollón¹, Jairo Jaime^{1*}

Materia fecal y sueros de cerdos de diferentes edades

Año	PPV7 positive/total	Coinfection PPV7+PCv2 positive/total (%)	Coinfection PPV7+PCV3 positive/total (%)	Coinfection PPV7+PED positive/total (%)
2015-2016	46/759 (6,06%)	5/46 (10,8%)	1/46(2,17%)	12/46 (26%)
2018-2019	27/126 (21,4%)	5/27 (18,5%)	13/27 (48,1%)	--
Total	73/885 (8,84%)	10/73 (13,6%)	14/73 (19,1%)	12/46 (26%)

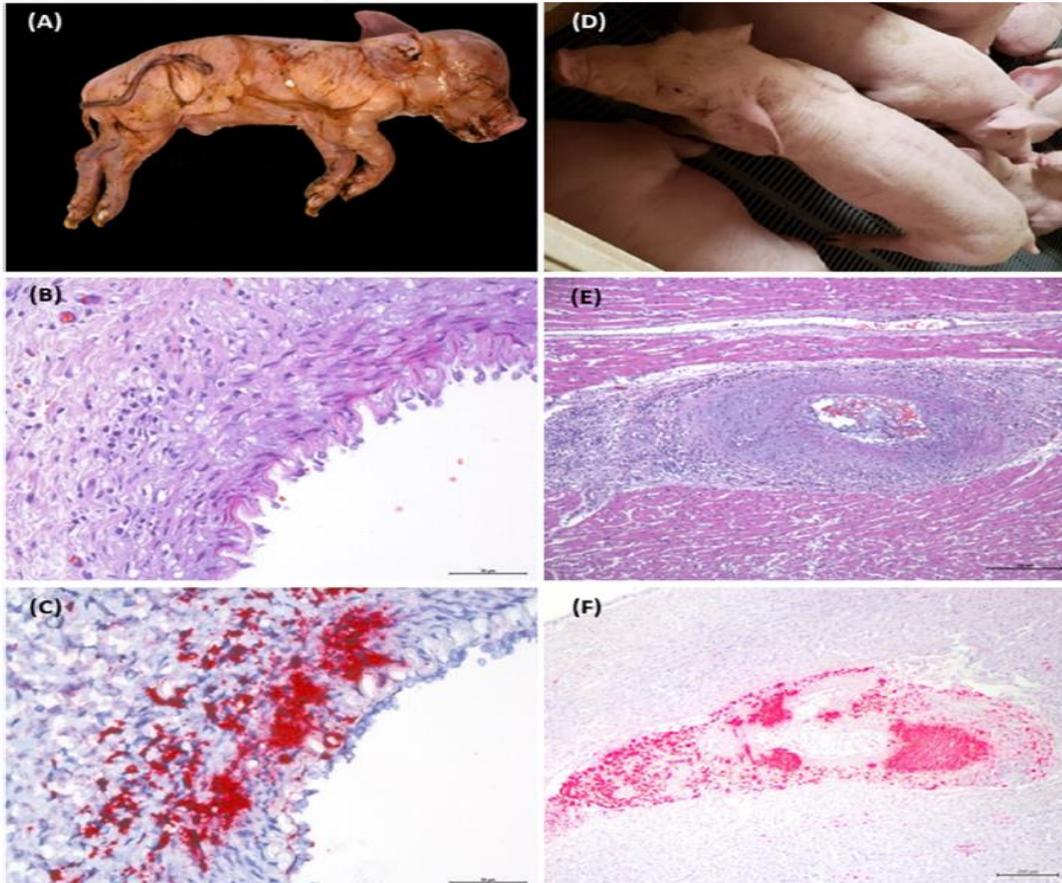
PCV3: enfermedades asociadas



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCV3 enfermedad reproductiva: PCV3-RD

PCV3 enfermedad sistémica: PCV3-SD



1. Signos clínicos:

Reproductivos

- Aborto tardío
- Malformaciones
- Momias
- Mortinatos
- Lechones débiles

Sistémicos

- Desmedro
- Pérdida de peso
- Signos neurológicos

2. Lesiones histopatológicas: Inflamación multisistémica linfoplasmocítica / linfocítica perivascular

3. Causalidad: moderada a alta concentración de genoma en tejidos afectados: qPCR; Hibridación *in situ* ISH – Inmunohistoquímica IHC

CASE REPORT

Open Access

Field infection of a gilt and its litter demonstrates vertical transmission and effect on reproductive failure caused by porcine circovirus type 3 (PCV3)



Diana S. Vargas-Bermúdez, Mayra A. Vargas-Pinto, José Darío Mogollón and Jairo Jaime

Historia

Granja comercial Fallas reproductivas:

- ↓Tasa parto
- ↑mortinatos
- ↑momias
- Abortos
- Lechones débiles

Vacunación

- PCV2: - Reemplazos y Lechones a los 21 días de edad
- Mycoplasma, Parvovirus, Leptospira, Erysipela y Haemophilus

Primera parte: Detección molecular virus asociados a problemas reproductivos

Muestreo:

- 10 reemplazos
- 40 cerdas en diferentes partos



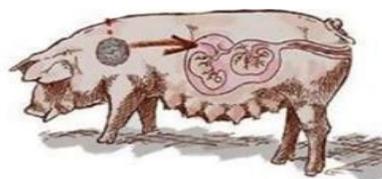
PCV2	PCV3	PRRS	PPV1	PPV7	APPV
24% (12/50)	20% (10/50)	0%	0%	10% (5/50)	0%

Coinfección PCV2+PPV7: 5/50 (10%)

PCV2+PCV3: 12/50 (24%)

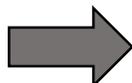
PCV2+PCV3+PPV7: 1/50 (2%)

Segunda parte: Seguimiento de una cerda de reemplazo + PCV3



Problemas relacionados con la cerda y la camada:

- Distocia
- Nacidos vivos: 10
- Momias: 1
- Lechones débiles: 2 (muertos pocas horas después)
- Muerte lechón a la 3ª. Semana de vida
- Muerte lechón a la 5ª. Semana de vida

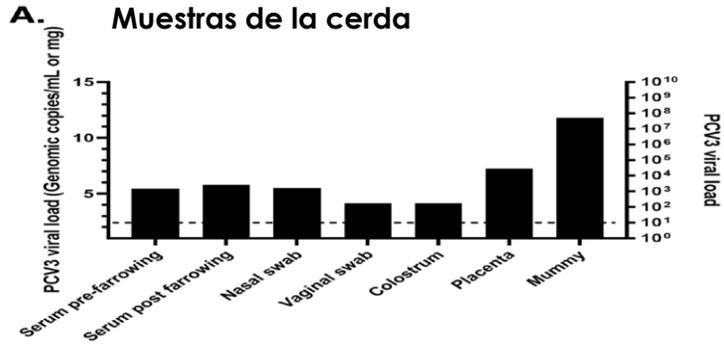


Muestreo	
1. Muestras de la cerda	<ul style="list-style-type: none"> • Suero pre-parto: 15 días antes del parto • Suero al momento del parto • Hisopo nasal y vaginal • Calostro y placenta • Momias
2. Muestras de los lechones dediles:	Bazo, nódulos linfáticos, tonsilas, hígado, riñón, corazón, pulmón
3. Muestras de la camada	<ul style="list-style-type: none"> • Suero pre-calostroal • Suero cada semana hasta la semana 6 de vida (seguimiento longitudinal)

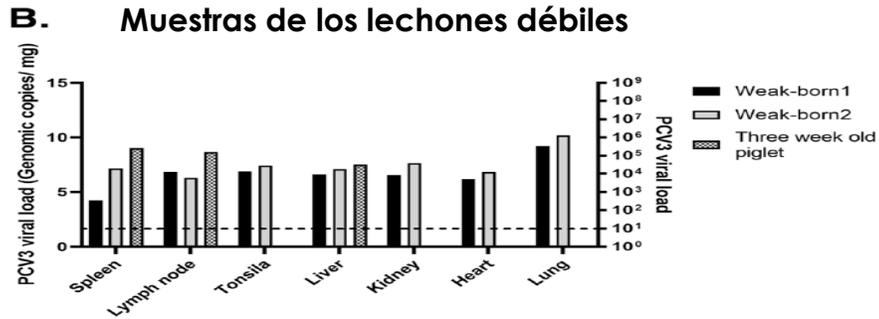


qPCR –PCV3
ISH-PCV3
tejidos positivos

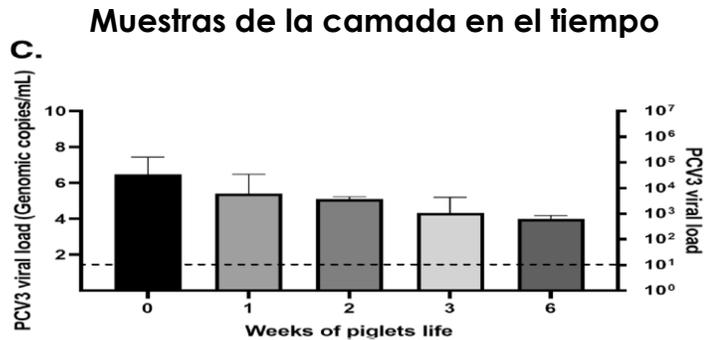
Resultados: PCV3-qPCR



Mayor carga viral en placenta 2×10^5 y momia $7,5 \times 10^9$



Mayor carga viral en nódulos linfáticos mesentéricos $5,19 \times 10^4$ y pulmón $7,7 \times 10^7$



La carga viral ↓ en el tiempo : suero pre-calostroal 10^6 y suero a la semana 6 de vida 10^3

Histopatología: tejidos fijados en formalina

a. Placenta:

- Cambios necróticos
- Congestión
- Infiltrados inflamatorios

b. Nódulos linfáticos mesentéricos:

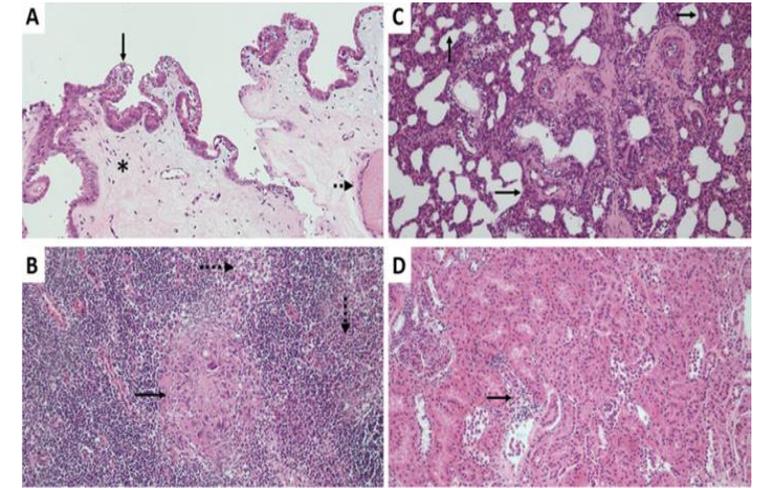
- Depleción linfoidea
- Formación de granulomas

c. Pulmón:

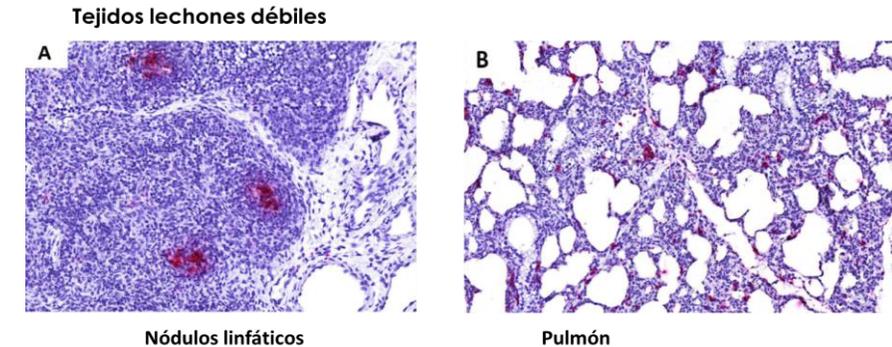
- Engrosamiento multifocal en el septo alveolar

d. Tejidos Lechones débiles-Riñón:

- Nefritis intersticial



Hibridación in situ- ISH: Corroborar las lesiones con la presencia de Antígeno viral



Tejidos con alta carga viral $>10^5$



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCV2-Control



PCV2: vacunación

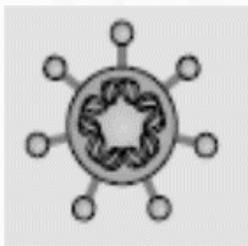
Desde 2004- Europa y 2006: América



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

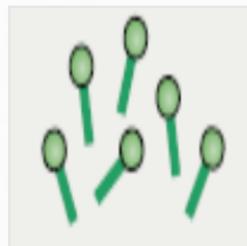
Vacunas no replicativas

Generadas principalmente a partir del genotipo PCV2a



Vacuna inactivada (muerta)

- Virus completo PCV2a destruido por métodos físicos o químicos
Immunogénicas: posee todas las proteínas virales
- Vacunas inactivadas disponibles
Inactivada PCV2a (Circovac®-Ceva)
Inactivada PCV2d (Suigen®PCV2-Virbac)



Vacuna recombinante

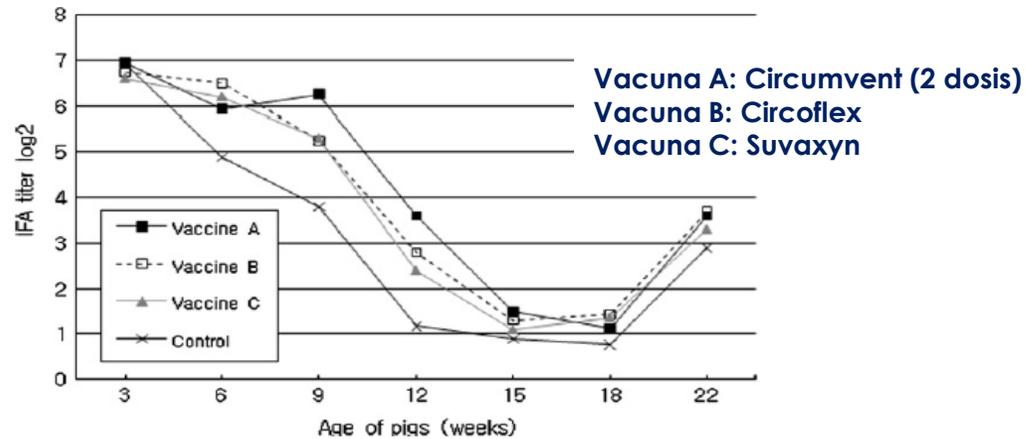
- Emplean un vector (virus o plásmido) para expresar gen que codifica Cap de PCV2a
- a. Vacuna quimérica: vector PCV1+ Cap -vacuna disponible: Foster® PCV-Zoetis
- b. Vacuna subunidad: vector baculovirus+gen Cap
- Ingelvac CircoFLEX-Boehringer Ingelheim®
- Circumvent®PCV-Merck,
- Porcilis®-PCV-Merck
- CircoGard®-Pharmgate Biologics

- ↓ Signos clínicos y lesiones asociados a PCVAD
- ↓ Cantidad de virus
- Mejorar los parámetros productivos: ADG
- Inducen inmunidad humoral y celular
- Protección contra PCV2a, PCV2b y PCV2d: Protección **CRUZADA**

PCV2: vacunación-Eficacia

Inmunidad humoral

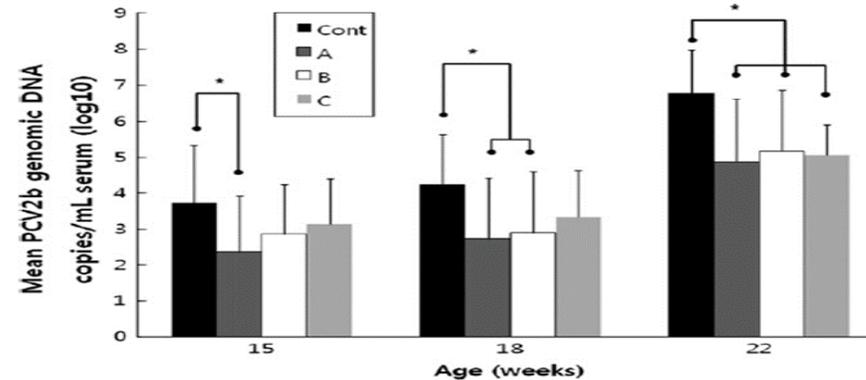
- No hay diferencias entre grupos vacunados
- Ac disminuyen lentamente en grupos vacunados
- <Ac en grupo sin vacunar



Diferentes protocolos de vacunación y no vacunados

Reducción de la viremia

- No hay diferencias entre grupos control y vacunados hasta la semana 15
- La cantidad de PCV2 (DNA) aumento en los 4 grupos desde la semana 15, pero la media del grupo control fue mas alta



Ganancia de peso

Age of pigs	Group (kg ± 95% CI) ^a			
	A	B	C	Controls
3 weeks	7.09 ± 0.46 (n = 20)	7.42 ± 0.39 (n = 19)	7.32 ± 0.45 (n = 20)	7.05 ± 0.59 (n = 18)
24 weeks	126.41 ± 3.84 ^b (n = 19)	126.95 ± 7.20 ^b (n = 16)	123.21 ± 6.0 (n = 19)	117.98 ± 6.79 ^b (n = 18)
ADG	0.81 ± 0.03 ^b	0.80 ± 0.05 ^b	0.78 ± 0.04	0.74 ± 0.05 ^b

PCVD en granjas vacunadas



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

↑ de casos en los últimos años y asociación con PCV-2d (genotipo más dominante en la actualidad)

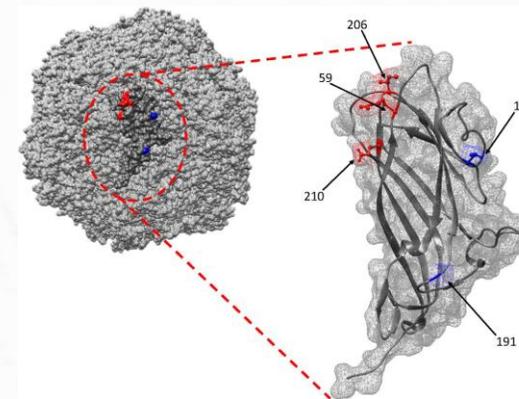
Prácticas vacúnales

1. Falta de vacunación
2. Aplicación inadecuada de la vacuna
3. Vacunación tardía (infección antes de la vacuna)
4. Vacunación temprana (interferencia con la inmunidad materna)
5. Vacunación frente a infección con otros patógenos

Falta de protección inmunológica de las vacunas actuales frente a los nuevos genotipos

Cuando la inmunidad no es esterilizante, las cepas salvajes pueden circular

Variaciones menores en la proteína de la cápside pueden conducir a escape de la inmunidad inducida por la vacuna?



Los aminoácidos de la proteína de la cápside muestran divergencia de los determinantes antigénicos en las cepas vacúnales?

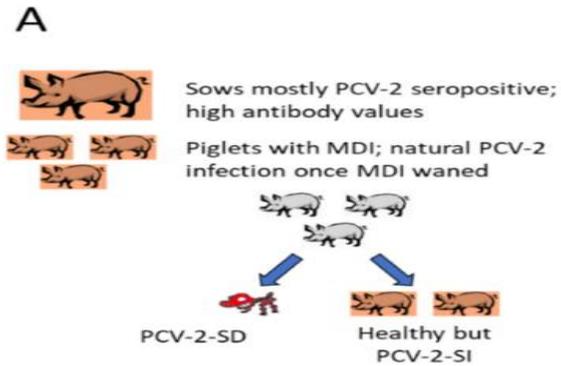
Table 2. Comparison of viral load inhibition by heterologous PCV2 genotype vaccines.

Study No.	Vaccine Genotype	Challenge Genotype	Co-Infecting Agent, If Any	Comments on Viremia
1	PCV2b	PCV2a	None	Viral load in lymph nodes of vaccinated pigs at 21 days after challenge with PCV2a was higher compared to pigs challenged with PCV2b (statistical significance not known) [109]
		PCV2b	None	
2	PCV2a	PCV2b	PRRSV, PPV	Compared to unvaccinated control pigs, the inhibition of serum viral load after challenge was 25% with the PCV2a vaccine and 100% with the PCV2b vaccine [78]
	PCV2b			
3	PCV2a	PCV2d	PRRSV	92.2% inhibition of serum viral load with a PCV2a vaccine and 100% inhibition of serum viral load with a PCV2d vaccine on day 49 after challenge [113]
	PCV2d			
4	PCV2a	PCV2b	None	Vaccinated challenged and vaccinated contact pigs displayed approximately one log decrease in viral load; however, the viral load was higher than 10^4 genome copies per mL of serum until 42 days after inoculation [115]
5	PCV2b	PCV2b	None	One out of the five pigs vaccinated with a PCV2d vaccine displayed detectable viral load at 21 days after challenge, compared to none in the PCV2b vaccine group [118]
	PCV2d			
6	PCV2a	PCV2d	None	Viral load after PCV2d challenge was reduced by one log or more in vaccinated pigs; however, serum viremia and shedding of virus were observed at 21 days after challenge in vaccinated pigs [110]

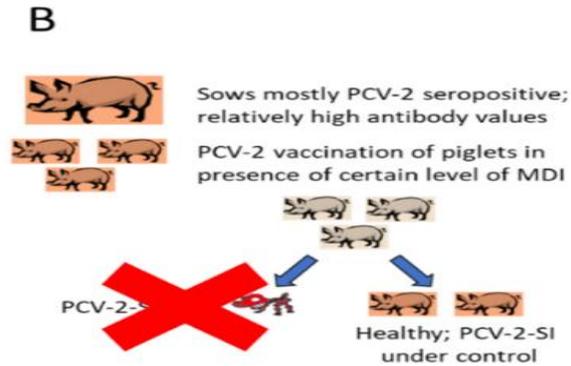
- **Diferentes estudios muestran que todas las vacunas confieren protección cruzada, aunque las bivalentes (PCV2a + PCV2b o PCV2a + PCV2d) confieren mayor protección cruzada tras el desafío con los diferentes genotipos**
- **Las vacunas actuales previenen la enfermedad pero son vacunas “leaky vaccine”: Disminuyen la transmisión y la tasa de infección pero no confieren protección completa**
- **Estas vacunas minimizan la replicación de PCV2 pero no la abolen**

Efectos de la vacunación de PCV2 en la epidemiología

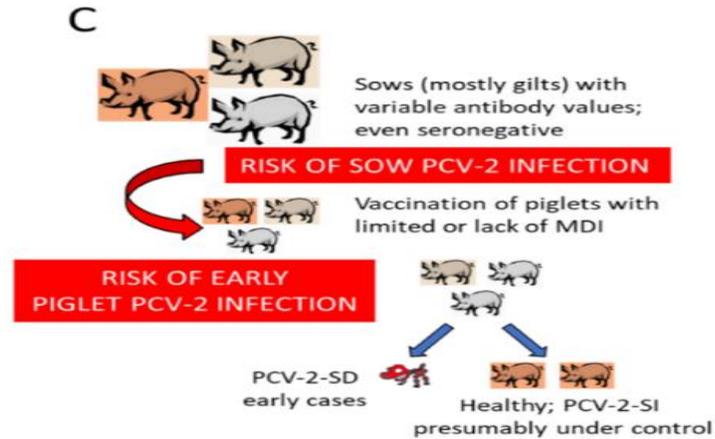
Antes de la vacunación



Introducción de la vacunación



Vacunación en el tiempo



Granjas con infección desarrollaron PCV2-SD

Vacunación de lechones : control de PCV2-SD

+ Resultados eficientes

- Desarrollo de poblaciones cerdas “naive”: desarrollando crías con inmunidad baja

- Disminución de la presión de infección
- Menores niveles de inmunidad poblacional
- Mayor riesgo de infección uterina y de los lechones



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

PCV Colombia en la actualidad

Secuenciación del ORF2 de cepas de circovirus porcino tipo 2 (PCV2) circulantes en Colombia para entender la evolución del virus en el país



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

zoetis[®]

Muestrear diferentes granjas de producción tecnificada que tengan posible circovirus por sospecha clínica, determinar la presencia de PCV2 y secuenciar ORF2



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

Selección granjas :

- 86 granjas
- 5 zonas de mayor producción porcina

Diferentes edades:

- Preceba
- Ceba
- Fetos

Selección animales :

- Signos clínicos: Animales con desmedro, signos respiratorios o signos reproductivos

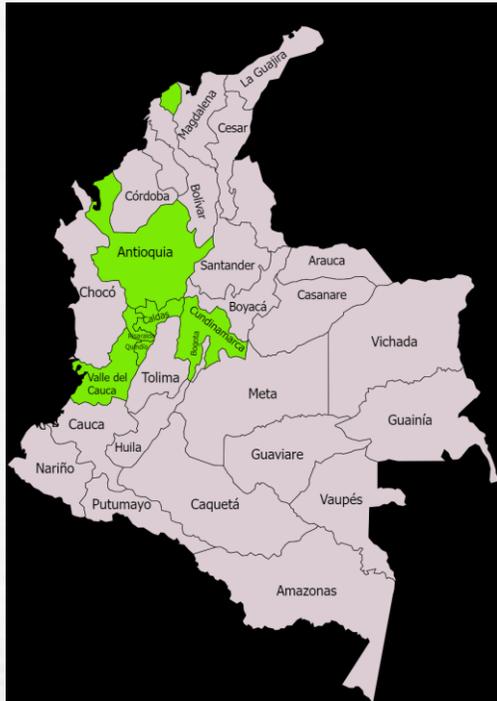
- Envío de muestras correctas para diagnóstico:

- sangre, nódulos linfáticos, bazo, timo, pulmón, corazón

Diagnóstico molecular e histopatológico

Protocolos de vacunación:
Lechones a la 3ª. Semana de vida (vacunas de diferentes casas comerciales)

- Circovac
- Fostera PCV
- Circumvent
- Circoflex
- Porcilis PCV

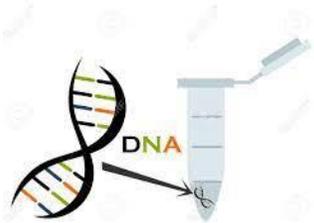


Procesamiento de las muestras

a. Sangre: recuperación de suero



Extracción ADN viral

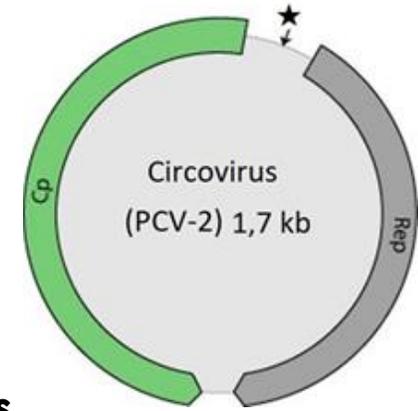


b. Tejidos:

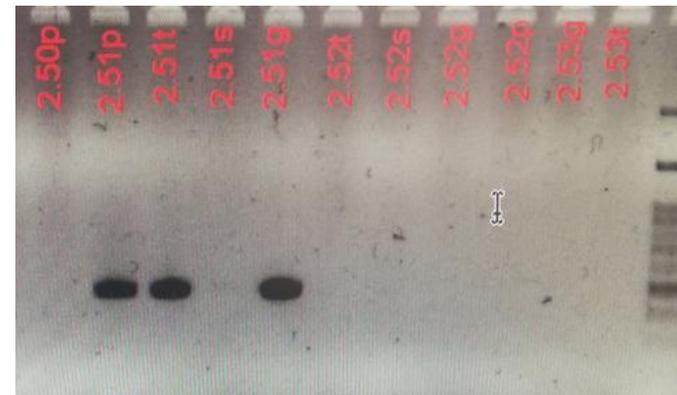
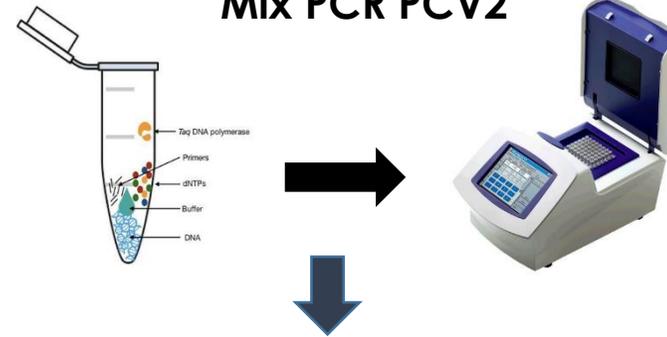
- Pulmón
- Timo
- Bazo
- Ganglios linfáticos
- Corazón

Amplificación por PCR convencional de PCV2 :

Primers que amplifican la región rep de PCV2 de 550 pb los cuales detectan todos los genotipos de PCV2 (a-f)



Mix PCR PCV2



Materiales y métodos

Amplificación por PCR en tiempo real de PCV2: determinar la carga viral (PCR cuantitativa)



PCR convencional	carga viral	Ct
POSITIVA	1,67x 10 ⁴	28
POSITIVA	7,94x10 ⁷	15
POSITIVA	3,46x10 ⁴	26,6
Positivo (suero)	6,62x 10 ⁴	26
Positiva	1,33x10 ⁴	27,6
POSITIVA	3,67x 10 ³	30
POSITIVA	1,92x 10 ³	31,1
POSITIVA	3,99x 10 ⁵	22,12
POSITIVA	1,73x 10 ⁵	23,54
Positiva (corazon)	2,37x10 ³	30
Positiva	3,33x10 ³	30,3
Positiva (suero)	1,56x 10 ³	31,3
NEGATIVA	5,39x 10 ²	33
POSITIVA	8,36x 10 ⁴	24
NEGATIVA	Negativa	negativa
NEGATIVA	1,10x10 ³	32,8
NEGATIVA	Negativa	negativa
NEGATIVA	Negativa	negativa
NEGATIVA	9,8x 10 ²	32,5
NEGATIVA	1,32x 10 ²	32,3
Positiva	1,77x10 ²	33,7

Muestras con carga viral baja < 10⁵: Ct > 25

Muestras con carga viral alta >10⁵: Ct <25

PCV2-SI

Cargas virales < 10⁵

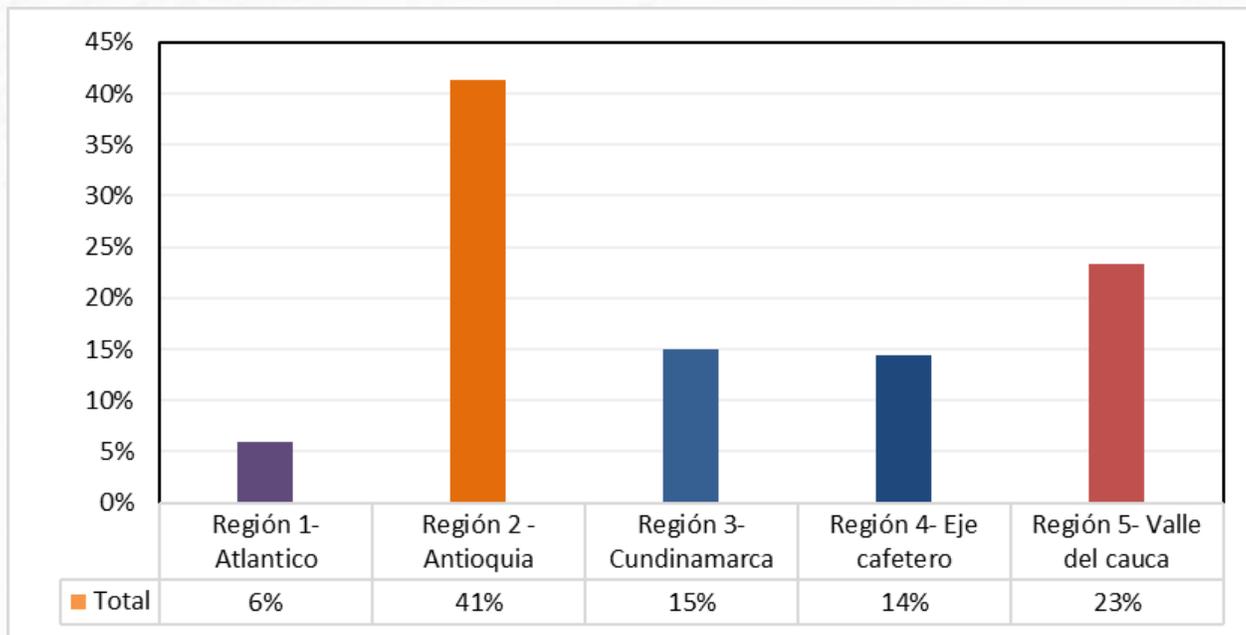


PCV2-SD

Cargas virales > 10⁵

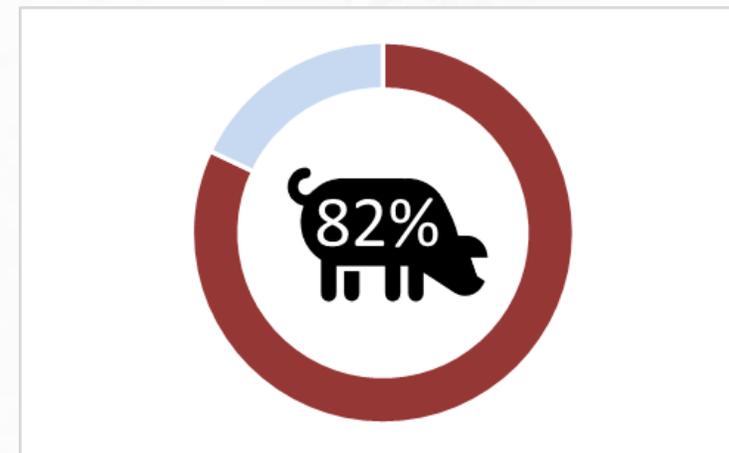


Distribución de los animales muestreados por regiones

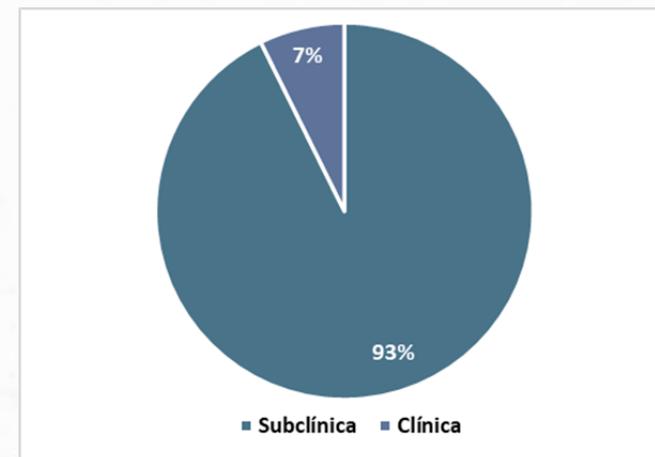


Cerdos muestreados = 167
Muestras evaluadas = 614

Cerdos infectados con PCV2



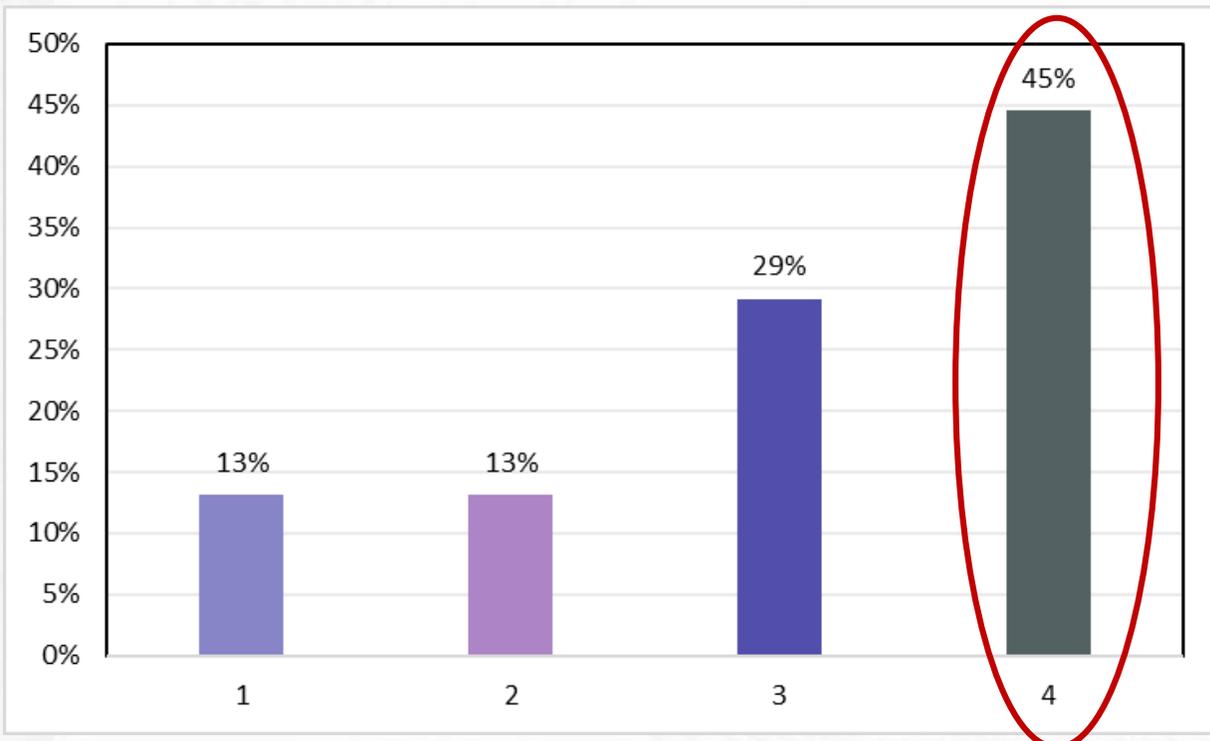
Clínico = Ct ≤ 25
Subclínico = Ct ≥ 25



Presencia de PCV2 en tejidos estudiados

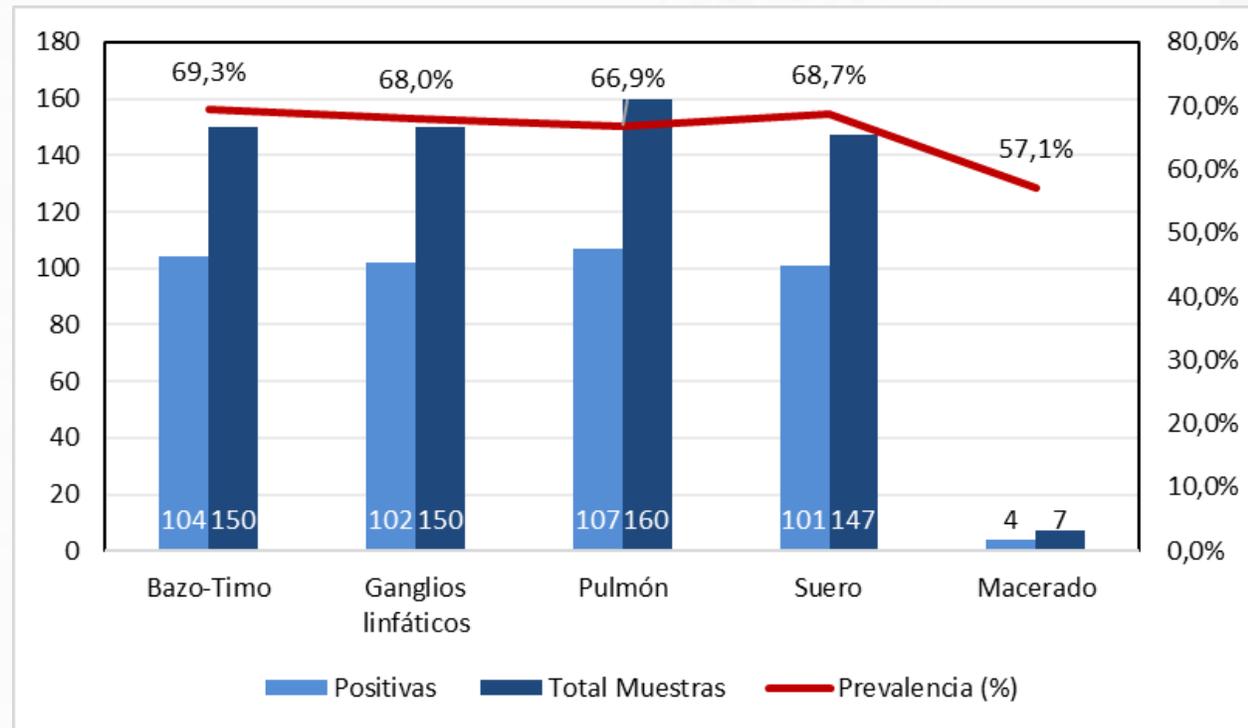


PCV2 por número de muestras



PCV2 de forma simultánea en al menos 4 tipos de tejidos diferentes

PCV2 por tipo de muestra



No hay diferencia en presencia de PCV2 por tipo de muestra



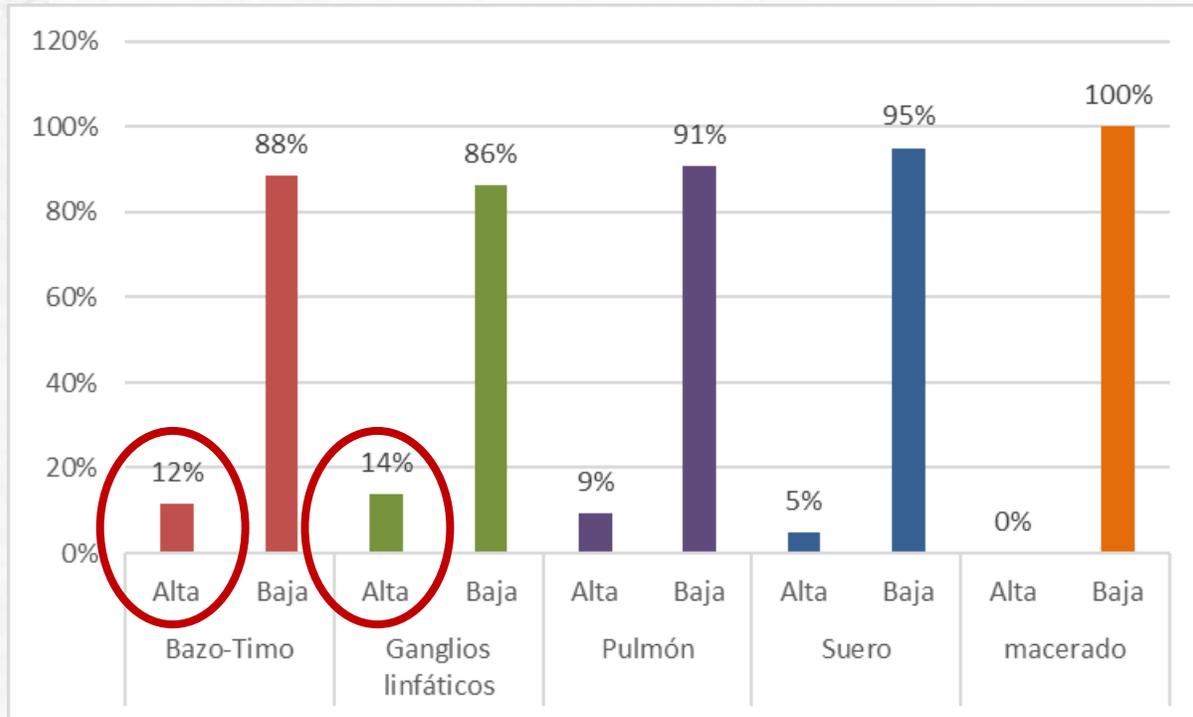
Cargas virales para PCV2 por tipo de muestra

Muestra	Carga Viral	Positivas	%	Total Positivas	Muestras Totales	Prevalencia	Mínimo	Media	Máximo
Bazo-Timo	Alta	12	12%	104	150	69,3%	12,60	30,34	35,4
	Baja	92	88%						
Ganglios linfáticos	Alta	14	14%	102	150	68,0%	10,80	30,22	35,3
	Baja	88	86%						
Pulmón	Alta	10	9%	107	160	66,9%	15,8	30,21	34,8
	Baja	97	91%						
Suero	Alta	5	5%	101	147	68,7%	22,8	30,09	35,8
	Baja	96	95%						
macerado	Alta	0	0%	4	7	57,1%	32,3	32,85	33,4
	Baja	4	100%						

- En todas las muestras la carga viral es baja $< 10^5$
- Suero: Cargas virales más bajas

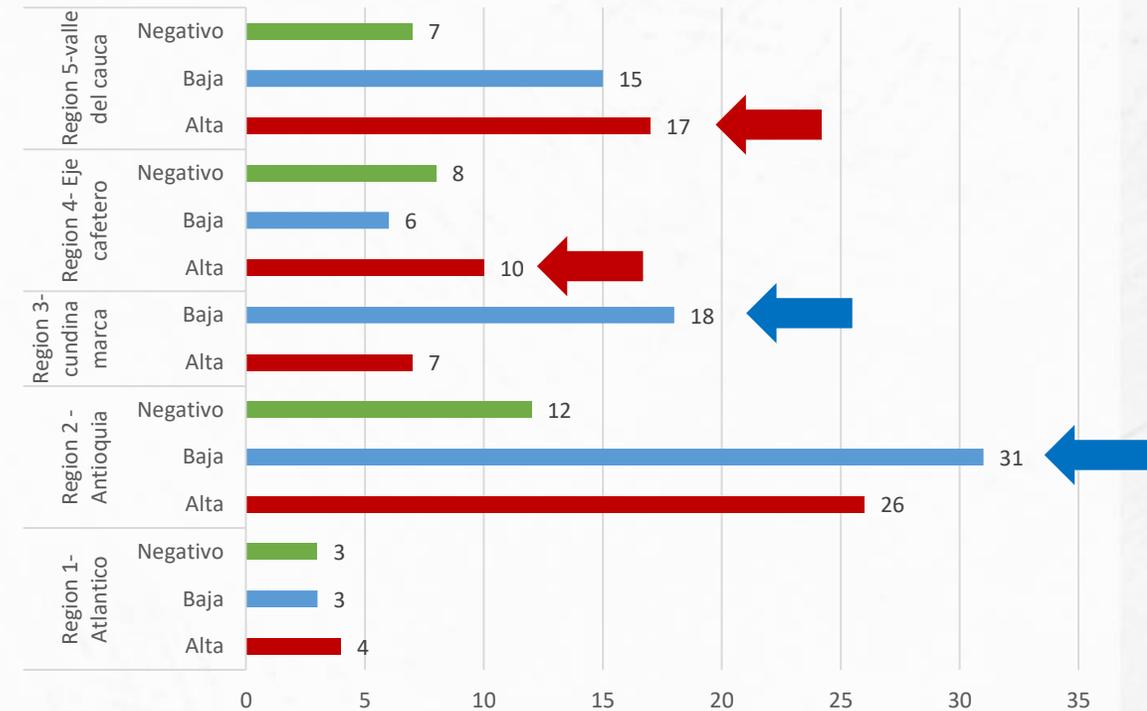


Cargas virales para PCV2 por tipo de muestra



PCV2 mayor probabilidad de encontrar altas cargas en tejido linfoide

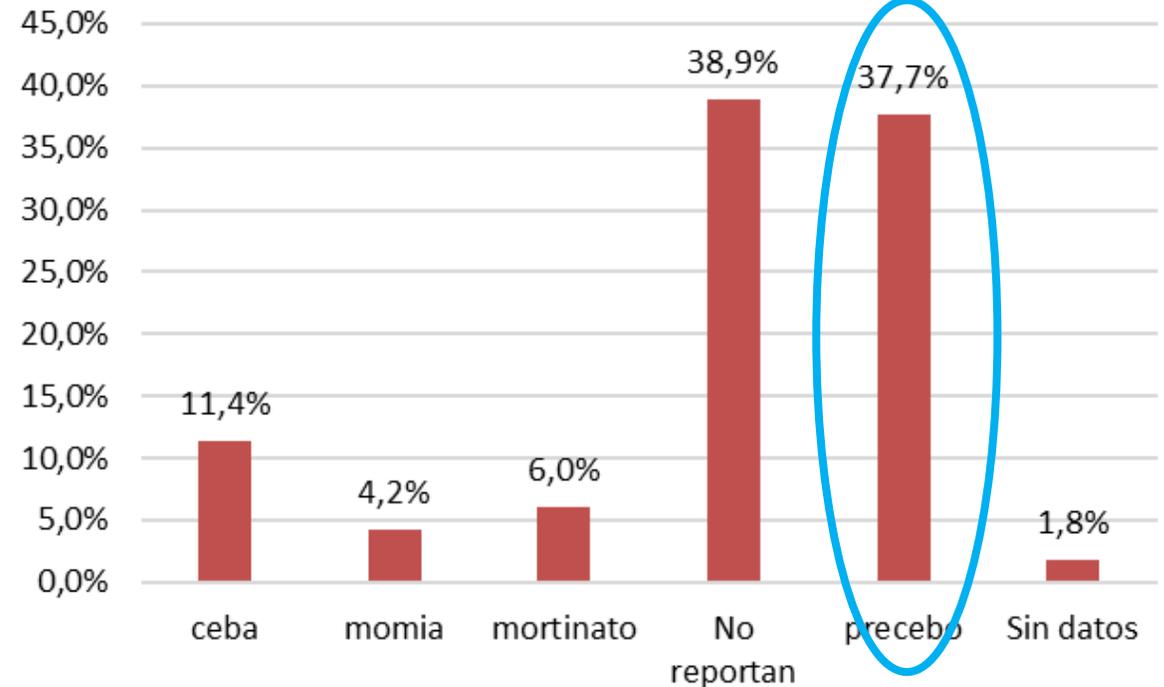
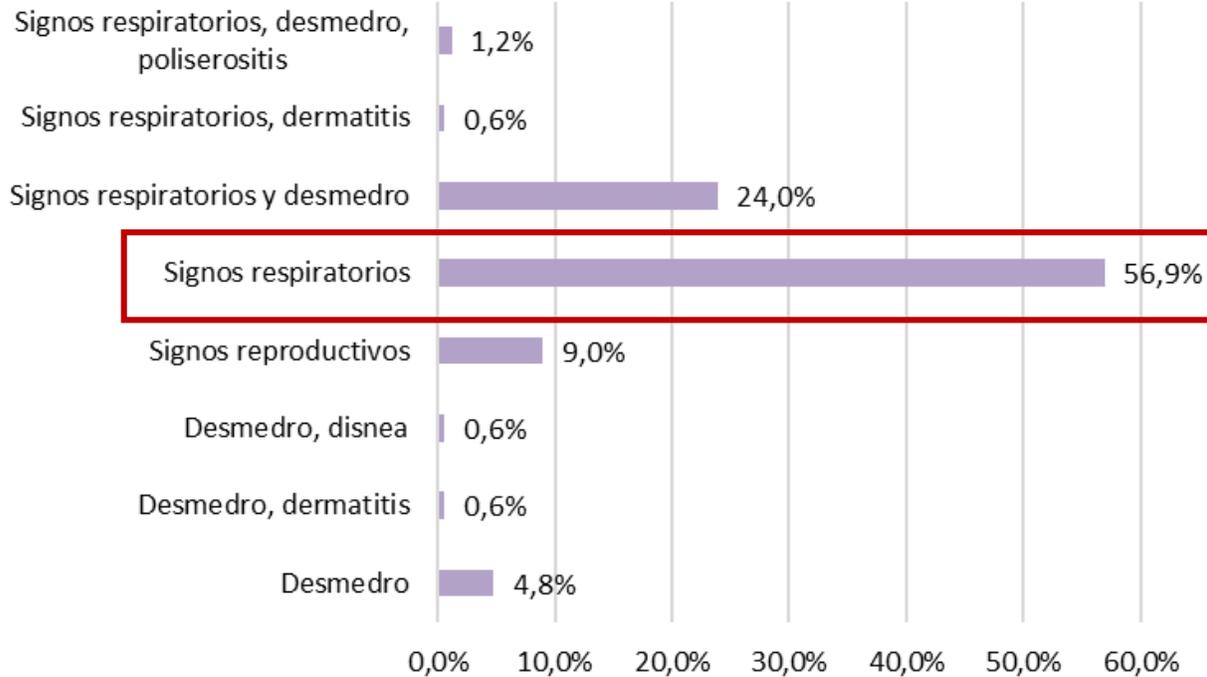
Cargas virales por regiones estudiadas





Signos presentes en cerdos vacunados contra PCV2

Edad



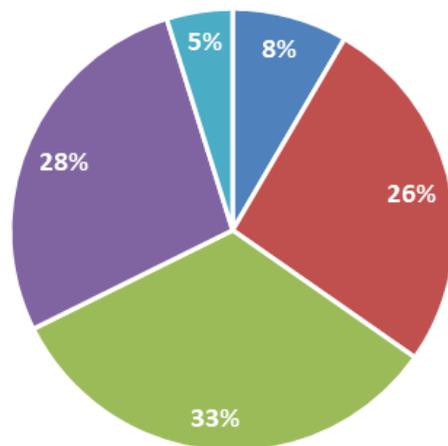
La mayor presentación fueron los signos respiratorios exclusivos (57%) o en asociación con otros signos

La mayoría de signos se reportó en la etapa de preceba

Co-infecciones



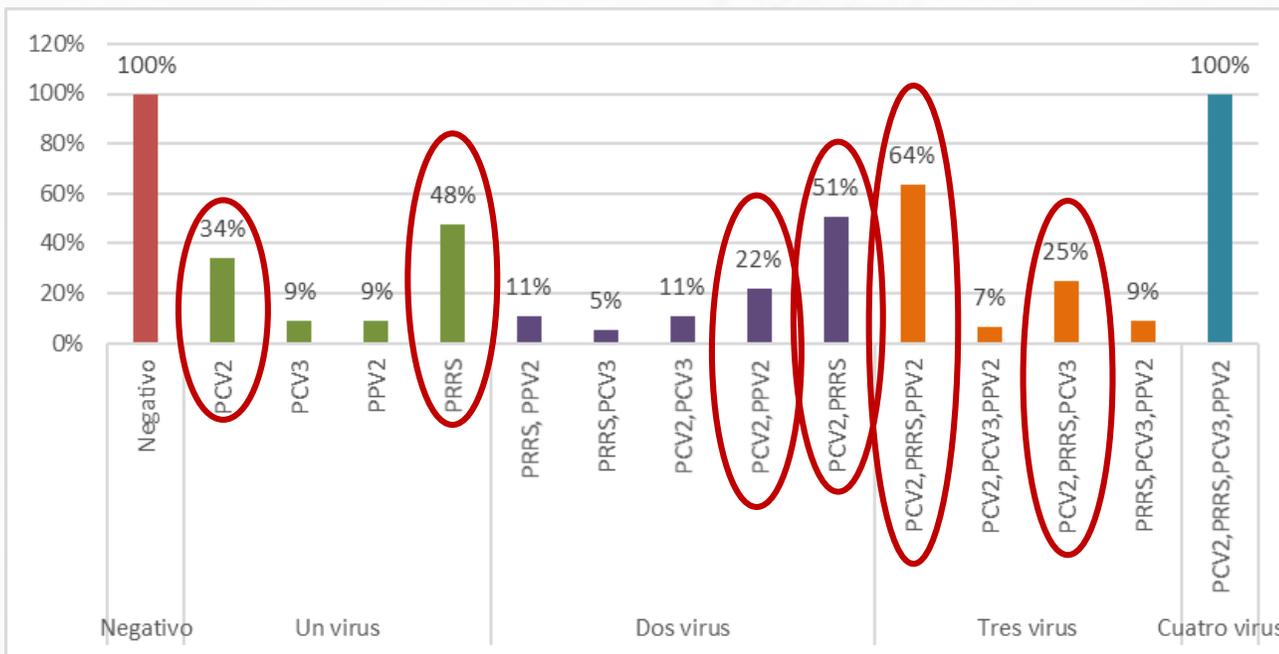
Proporción de presencia de coinfecciones



■ 0 ■ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4

La mayor proporción de coinfección se encontró para dos virus

Tipos de co-infección encontradas



Infección viral única: PRRSV, PCV2

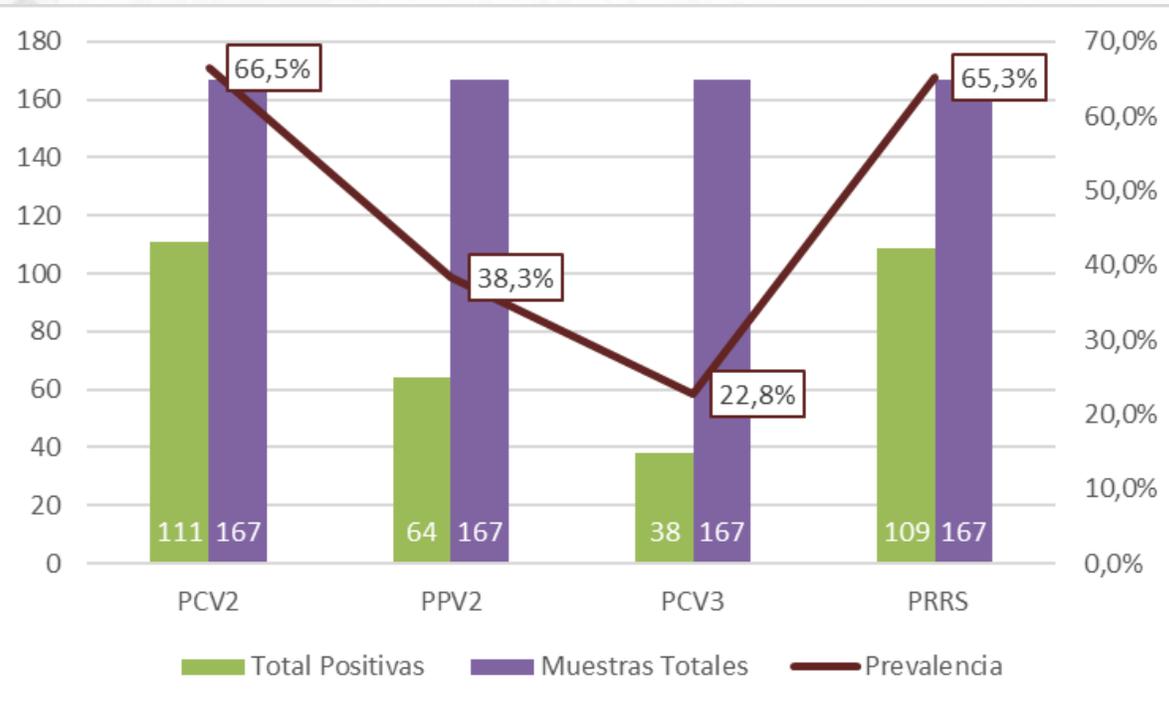
Co-infección doble: PCV2/PRRSV, PCV2/PPV2

Co-infección triple: PCV2/PRRSV/PPV2, PCV2/PRRSV/PCV3

Co-infección cuádruple: PCV2/PRRSV/PCV3/PPV2



Virus de mayor prevalencia

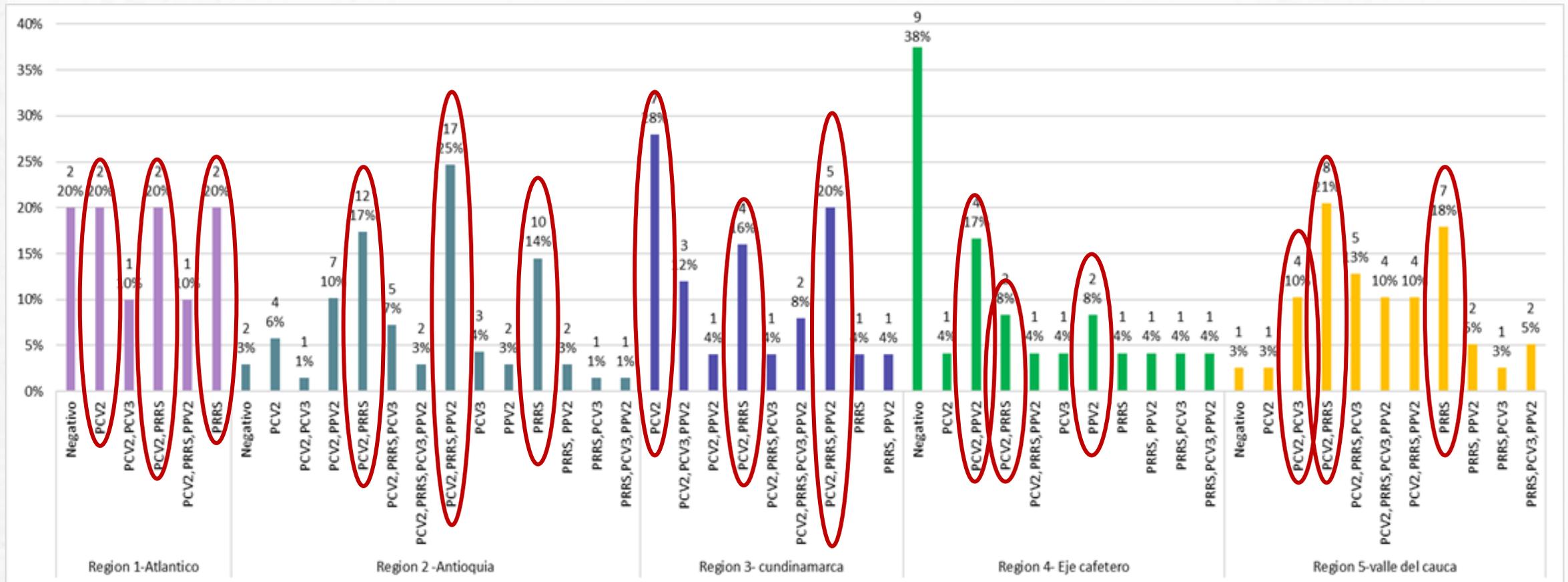


Muestra	Carga Viral	Positivas	FR	Total Positivas	Muestras Totales	Prevalencia	Mínimo	Media	Máximo
PCV2	Alta	10	9%	111	167	66,5%	12,60	30,34	35,4
	Baja	101	91%						
PPV2	Alta	11	17%	64	167	38,3%	10,80	30,22	35,3
	Baja	53	83%						
PCV3	Alta	2	5%	38	167	22,8%	15,8	30,21	34,8
	Baja	36	95%						
PRRS	Alta	4	4%	109	167	65,3%	22,8	30,08	35,8
	Baja	105	96%						

Los virus de mayor prevalencia fueron PCV2 y PRRSV

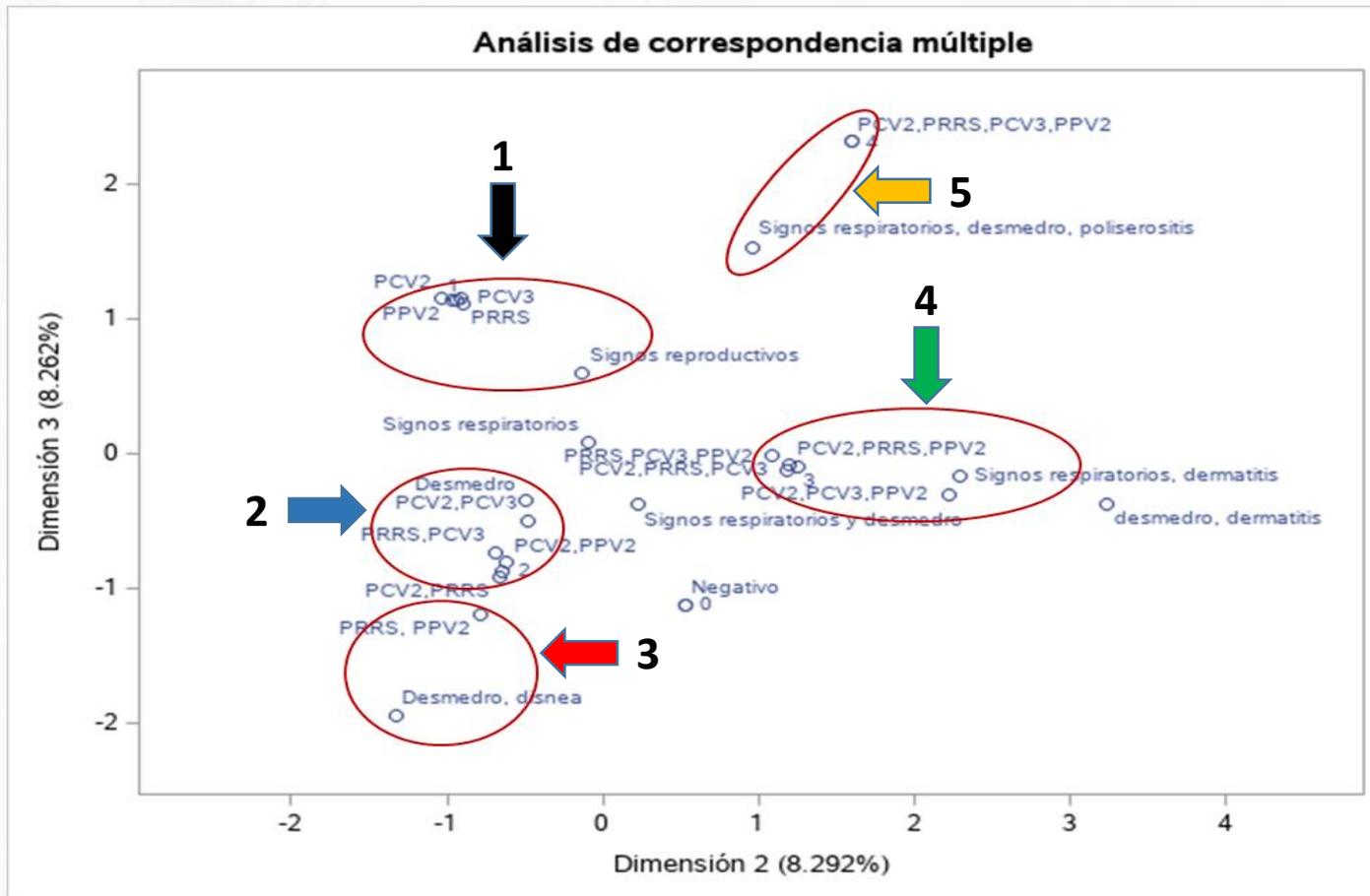


Virus de mayor prevalencia por regiones





Correspondencia entre tipo de infección y signos clínicos



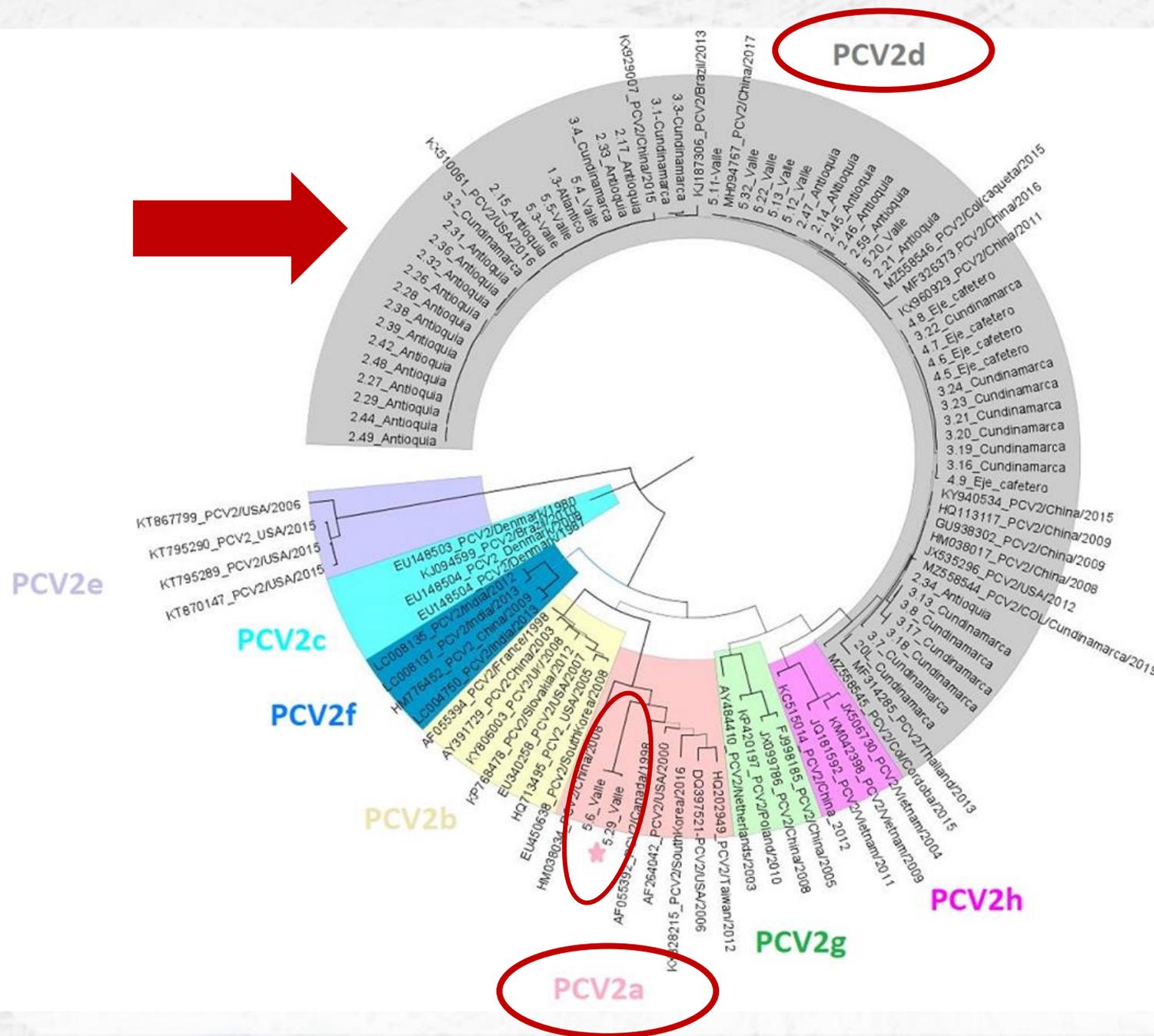
**1. Monoinfección (PCV2, PCV3, PRRSV, PPV2):
signos reproductivos**

**2. Infección dual (PCV2/PCV3, PCV2/PPV2,
PCV2/PRRSV, PCV3/PRRSV): desmedro**

3. Infección dual (PRRSV/PPV2): desmedro, disnea

4. Infección triple: signos respiratorios, dermatitis

**5. Infección cuádruple: signos respiratorios,
desmedro, poliserositis**



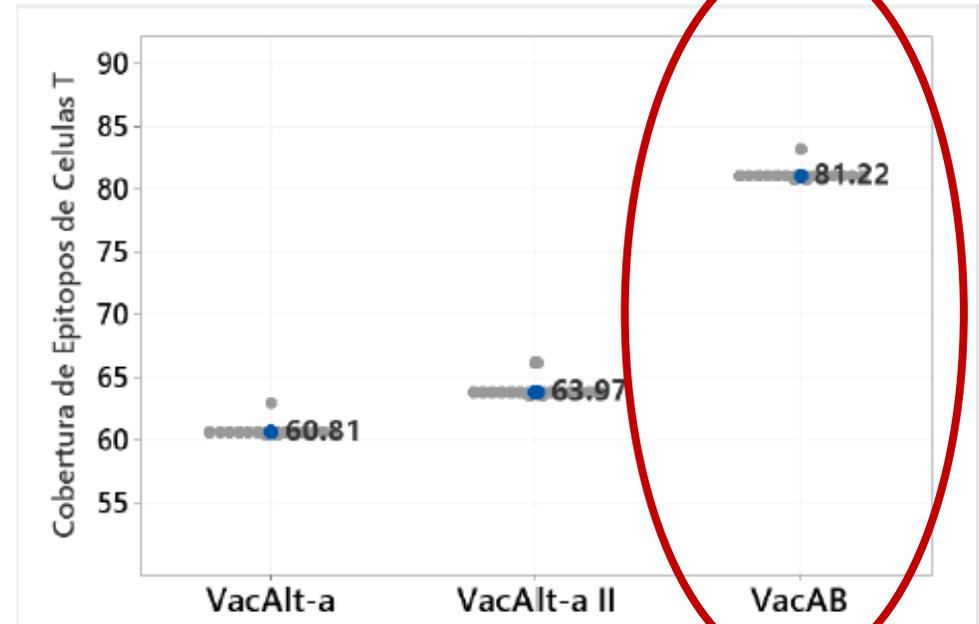
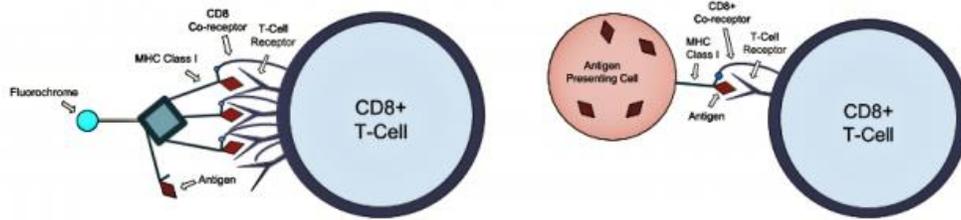
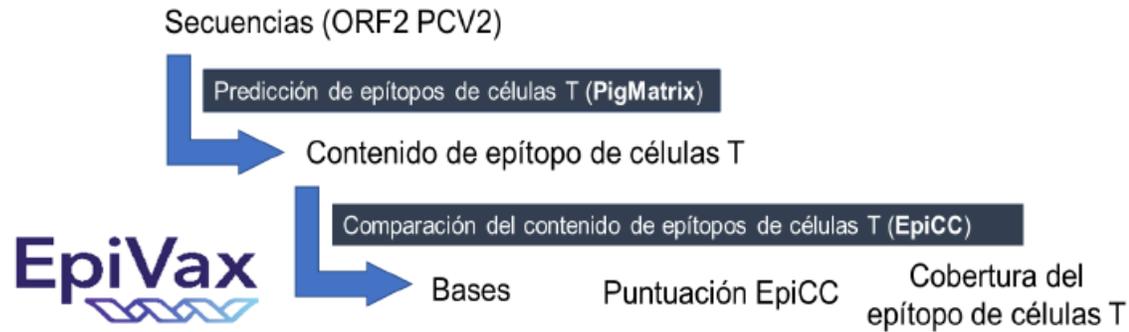
PCV2d:

- 96,49%
- Cinco regiones

PCV2a:

- 3,7%
- Valle del Cauca

Cobertura de epítomos de células T de dos vacunas monovalentes y una bivalente contra cepas circulantes de PCV2d



- La vacuna bivalente mostró una mayor cobertura de epítomos contra PCV2d sugiriendo una mayor cobertura inmune
- EpiCC ofrece una forma de evaluar el impacto de la divergencia genética en la cobertura del epítomo de células T para las vacunas actuales contra PCV2.

Conclusiones



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

- **Los circovirus porcinos están en evolución constante, particularmente el PCV2. Al afectar el sistema inmune favorecen las coinfecciones y dificultan su control por vacunación.**
- **A pesar del empleo rutinario de vacunas para el control de PCV2, este virus tiende a persistir en las poblaciones porcinas vacunadas y generar manifestaciones clínicas y subclínicas.**
- **Hay una alta prevalencia de PCV2 en todas las regiones de Colombia, aunque la mayor presentación es SI.**
- **El genotipo predominante en Colombia es el PCV2d**
- **De acuerdo con la carga viral y las coinfecciones, las presentaciones clínicas son diferentes**
- **Análisis de modelación sugieren que las vacunas bivalentes tienen una mayor cobertura de epítomos contra PCV2**

Perspectivas de investigación



porkaméricas
XX congreso internacional
2022

1. Estudio de las coinfecciones virales presentes en el complejo reproductivo porcino (SMEDI) en cerdas de reemplazo en granjas tecnificadas de Colombia

Trabajo Doctorado. Estudiante: Diana S. Vargas

2. Dinámica de algunos virus respiratorios en dos granjas porcinas tecnificadas en el trópico alto colombiano

Trabajo Maestría. Estudiante: Luis Edgar Tarazona

3. Respuesta inmune innata asociada a nuevos parvovirus.

Trabajo Maestría. Estudiante: María Camila Franco

4. Aislamiento y producción de una proteína recombinante para ser empleada en diagnóstico de parvovirus porcino tipo 2 (PPV2)

Trabajo de Maestría. Estudiante: María Fernanda Naranjo



porkaméricas
XX congreso internacional
2022



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Diana S. Vargas

María Fernanda Naranjo

Luis Edgar Tarazona

Johana González

Adriana Carrillo

María Camila Franco

Lina Rozo

José Darío Mogollón

Jairo Jaime

zoetis®

José Fernando Estrada

Jair Gómez

Constanza Gil

José Angulo

Álvaro Aldaz

**Equipo de veterinarios y
técnicos que colaboraron
en este proyecto**



porkaméricas
XX congreso internacional
2022



Gracias!