



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

MAPS

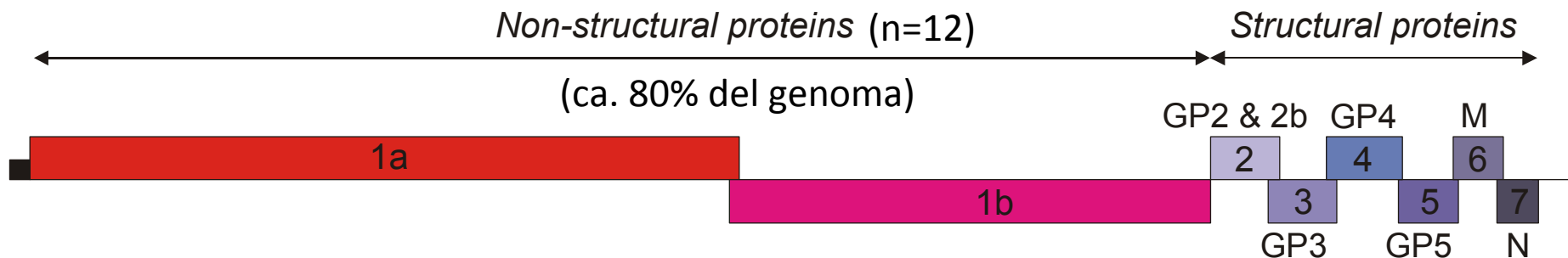
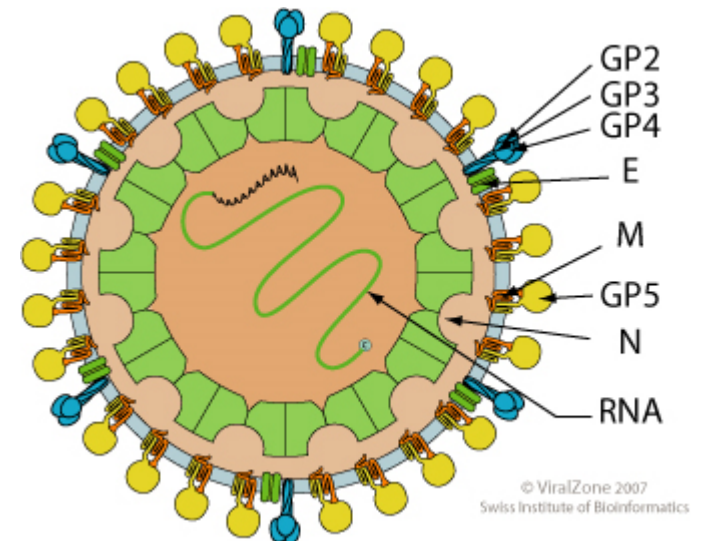
PRRS tra diagnosi e vaccinazione: quale la sequenza vincente?

Michele Drigo

Università degli Studi di Padova
Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

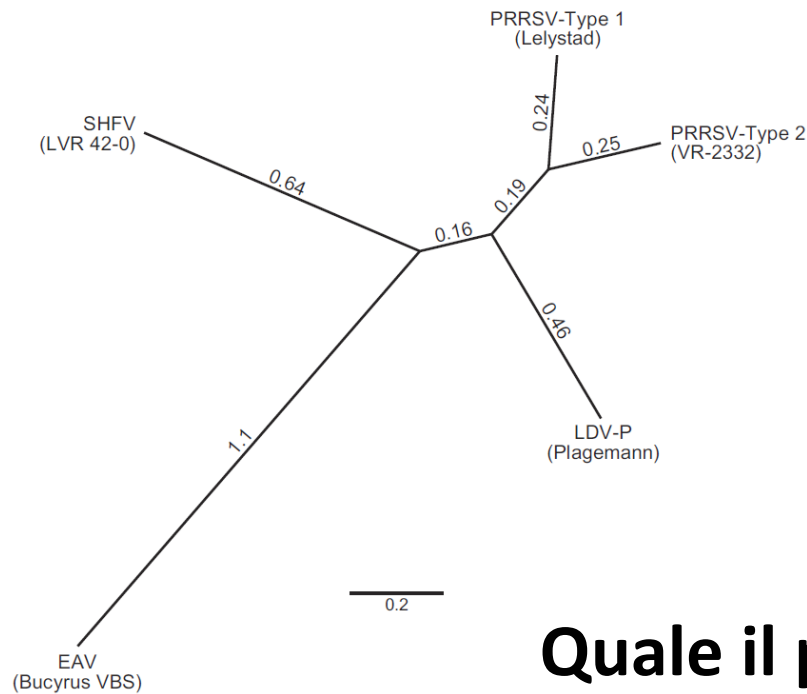
I virus: PRRSV-1 & PRRSV-2

- PRRSV-1: Paesi Bassi, Lelystad virus (Wensvoort et al. 1991)
- PRRSV-2: USA, VR-2332 (Collins et al. 1992)
- Enveloped ss RNA virus
- *Mininidoviridae* famiglia
 - *Betaminidovirus* genere
 - **Specie: betaminidovirus suid 1 (PRRSV-1)**
 - **Species: betaminidovirus suid 2 (PRRSV-2)**





Mininidoviridae (Arteriviridae) tassonomia



In 2012

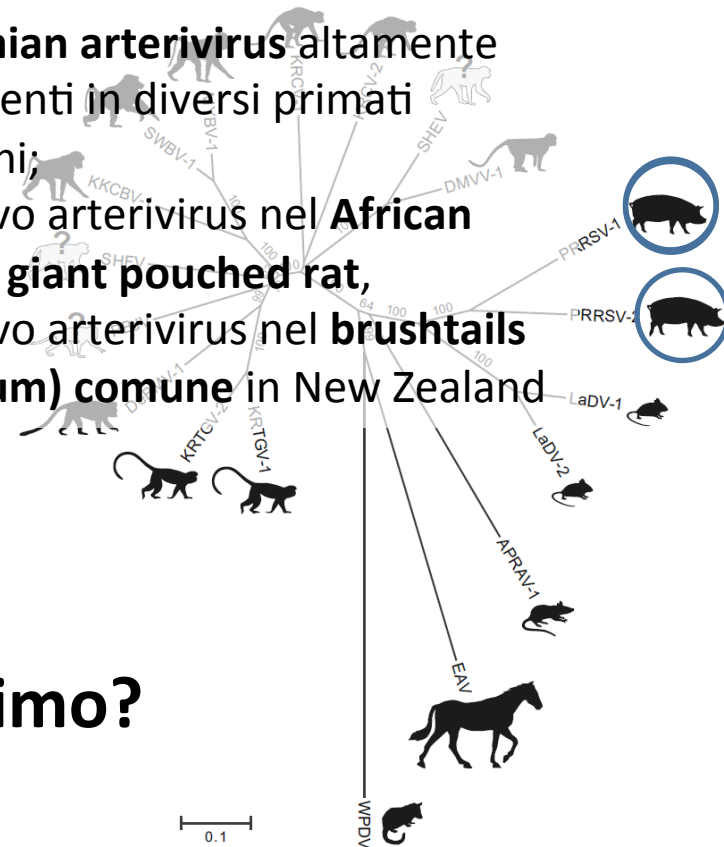
Faaberg et al. 2012, Family Arteriviridae.

11 simian arterivirus altamente divergenti in diversi primati

Africani:

1 nuovo arterivirus nel **African forest giant pouched rat**,

1 nuovo arterivirus nel **brushtails (possum)** comune in New Zealand



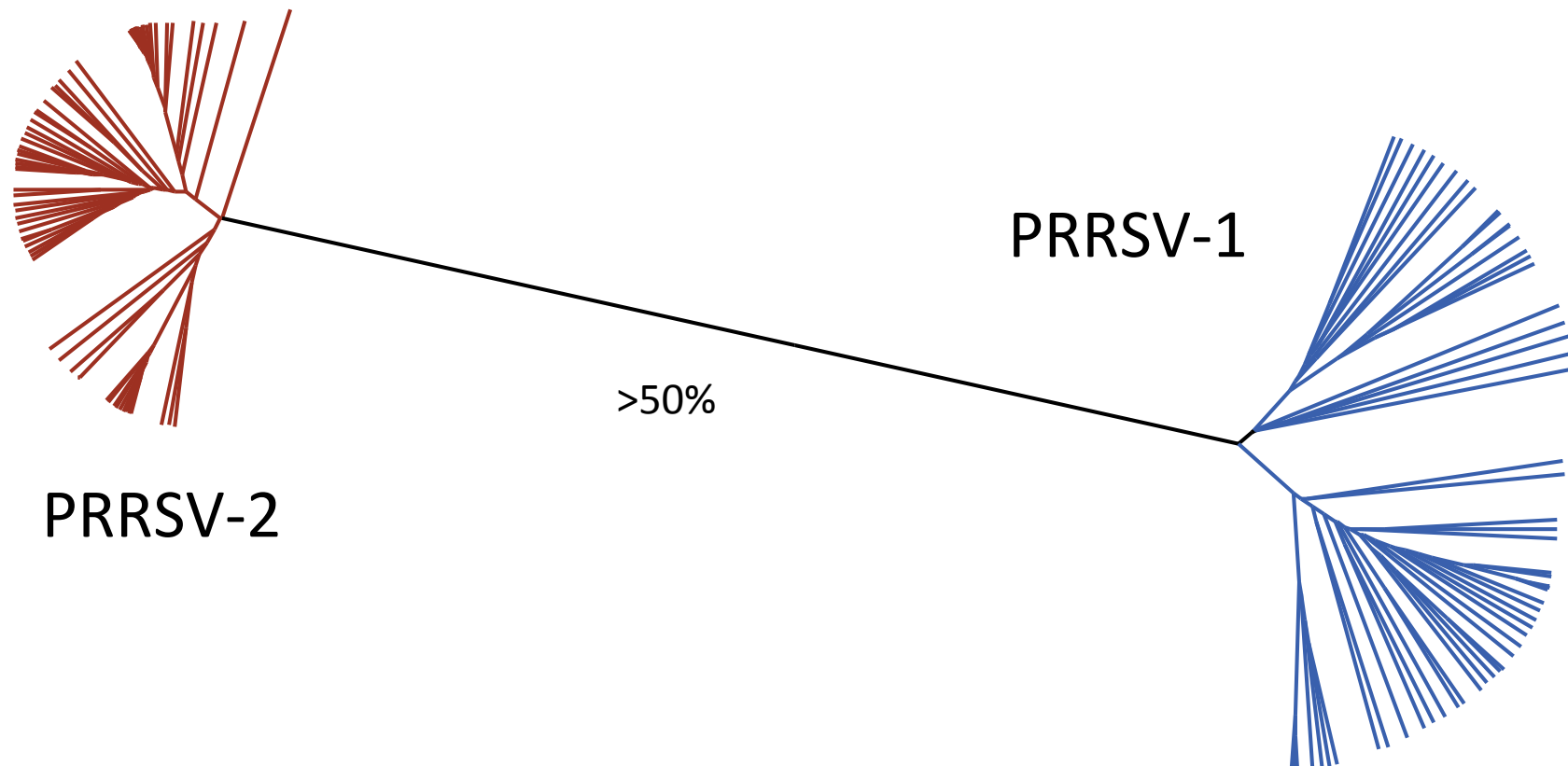
In 2016

Kuhn et al. Arch Virol. 161, 2016

Quale il prossimo?



PRRSV-1 and PRRSV-2 sono due specie virali
diverse che causano una malattia - PRRS



Dendrogramma da Juan Abrahante, University of Minnesota.

0.03



Perchè il sequenziamento è utile nello studiare il virus della PRRS?

- Il genoma di PRRSV è altamente predisposto a mutare
- La sequenza dell'acido nucleico (l'ordine dei nucleotidi) di ogni stirpe virale è unica (quindi **la sequenza è come un'impronta digitale!**)
- Discriminare tra le specie di PRRSV (genotipi) è facile tramite PCR (i loro geni differiscono del 40-50%!!)
- Ma discriminare tra stipti richiede il sequenziamento

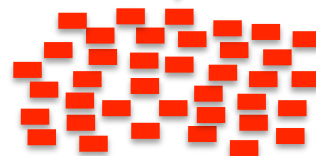
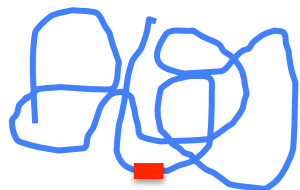


=

```
1   aggctggtaacttac  
3   tcacgctggtaacttac  
4   caggctggtatcctt  
5   agagt---aacttac
```

DNA sequenziamento e analisi

Sangue
(ma non solo)

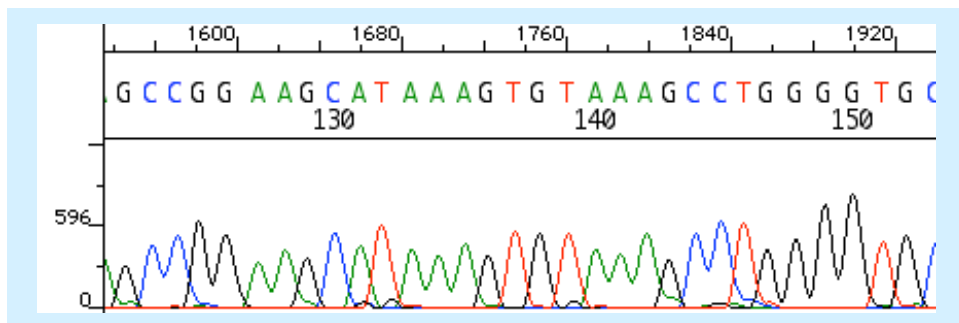


Campione

Estrazione RNA

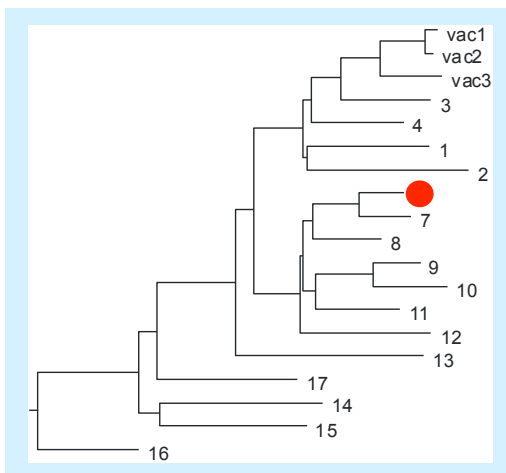
Corsa di PCR

Amplificati messi nel Sequenziatore



```

1   aggctggtaacttac
3   tcacgctggtaacttac
4   caggctggtatcctt
5   agagt---aacttac
    
```

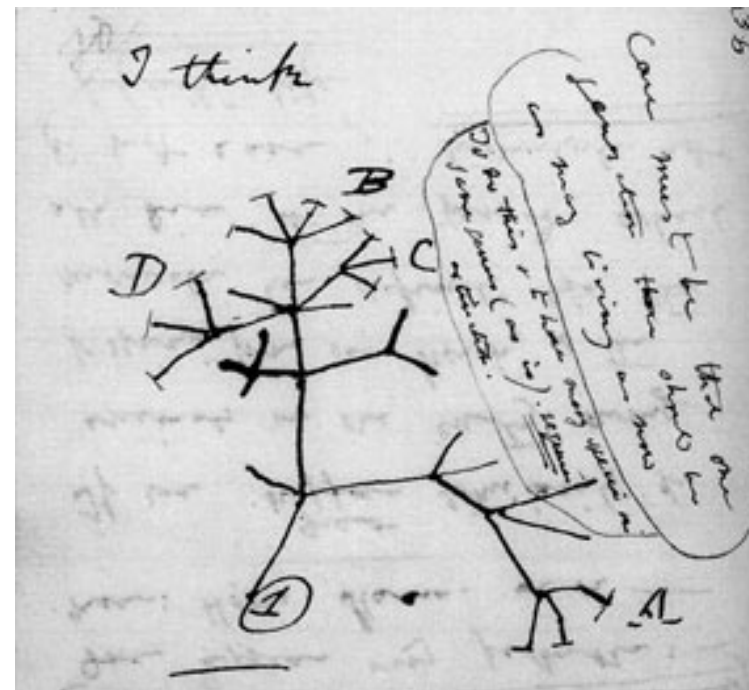


Adattato da M.P. Murtaugh

Cos'è la filogenesi?

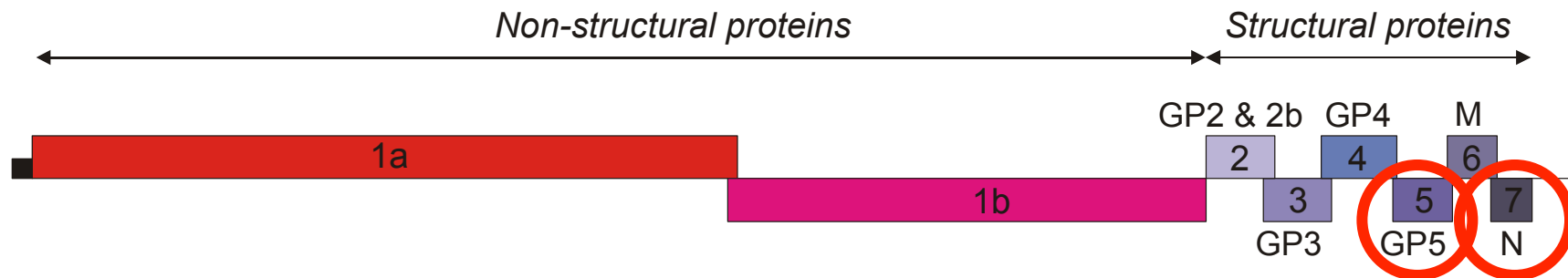
L'obiettivo della filogenesi (in generale) è quello di cogliere le relazioni evolutive tra specie diverse!

(cogliere le relazioni tra stipiti virali nel nostro caso!)





- La ricostruzione di un albero filogenetico (cioè le relazioni) è una **PROCEDURA di STIMA** in cui la storia evolutiva viene fatta sulla base di **INFORMAZIONI INCOMPLETE**
- Cattiva qualità delle sequenze, o impropria selezione del set di referenza possono portare a conclusioni errate



ATTENZIONE: molto spesso la storia evolutiva di PRRSV è ricostruita sulla base di sequenza nucleotidiche di una frazione molto piccola del genoma intero!!

[meno di 1000 nucleotidi (ORF5+ORF7) su 15000 (intero genoma)]



Virus Research 42 (1996) 159–165

**Virus
Research**

Phylogenetic relationship
reproductive and respiratory
from DNA sequence



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

**veterinary
microbiology**

Veterinary Microbiology 114 (2006) 214–224

www.elsevier.com/locate/vetmic

Paloma Suárez^a, Rafael Zardoya
Alfred

^a*Departamento de Patología Animal I (Sania*

^b*Departamento de Bioquímica y Biología M*

^c*Tecnología para el Diagnóstico e I*

^d*Centro Nacional de Biotecnología*

Received

Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of
porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)
from PRRS-positive Italian farms: A showcase for PRRSV
epidemiology and its consequences on farm management[☆]

Patrizia Pesente^{a,*}, Valeria Rebonato^b, Gianpietro Sandri^c,
Davide Giovanardi^a, Luigi Sperati Ruffoni^a, Sandra Torriani^b

^a*Laboratorio Tre Valli, Corte Pellegrina, San Martino Buon Albergo, 37036 Verona, Italy*

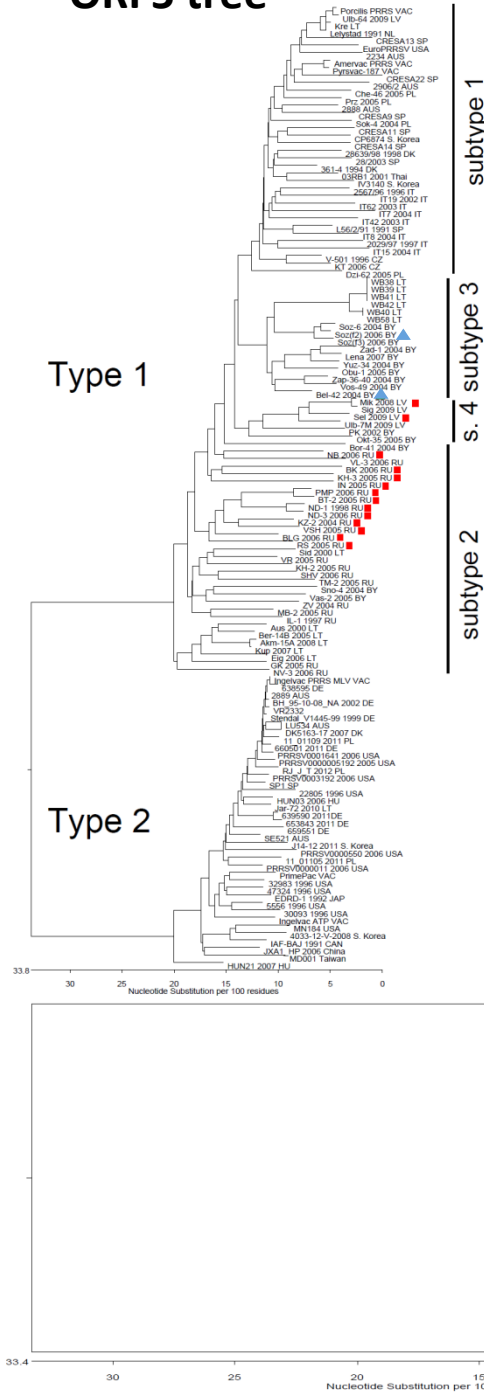
^b*Dipartimento Scientifico e Tecnologico, Università degli Studi di Verona, Strada Le Grazie 15, 37134 Verona, Italy*

^c*Montorsi Francesco & Figli S.p.A., Magreta di Formigine, 41010 Modena, Italy*

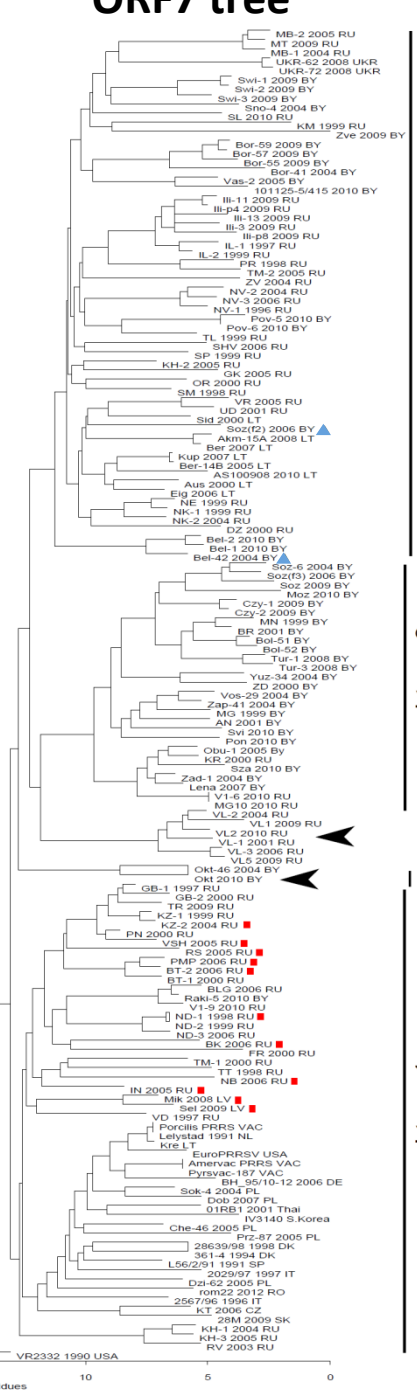
Received 28 June 2005; received in revised form 10 November 2005; accepted 15 November 2005

**Filogenesi = strumento epidemiologico e di management
(valutazione della biosicurezza)**

ORF5 tree



ORF7 tree

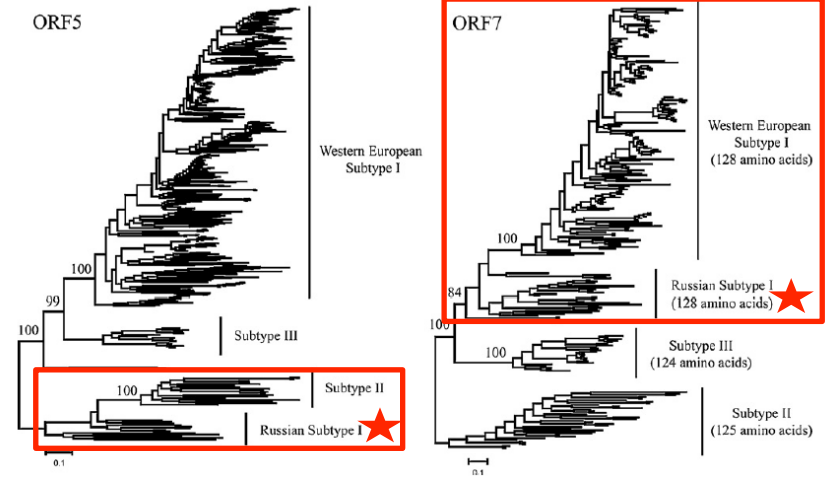


Molecular evolution of PRRSV in Europe: Current state of play

Tomasz Stadejek^{a,*}, Arunas Stankevicius^b, Michael P. Murtaugh^c,
Martin B. Oleksiewicz^d

^a Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Nowoursynowska 159c, 02-776 Warsaw, Poland
^b Laboratory of Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Lithuanian University of Health Sciences, LT-47181 Kaunas, Lithuania
^c Department of Veterinary and Biomedical Sciences, University of Minnesota, 1971 Commonwealth Avenue, St. Paul, MN 55108 USA
^d Ministry of Education and Research, Government of Greenland, Greenland

M. Shi et al. / Virus Research 154 (2010) 7–17





La tipizzazione genetica dei PRRSV è uno strumento molto importante per tracciare epidemiologicamente (raggruppare) i virus della PRRS

ma...

il numero di sequenze disponibili in Europa è limitato

così...

identificare le fonti di uno stipe di PRRSV è spesso non possibile!



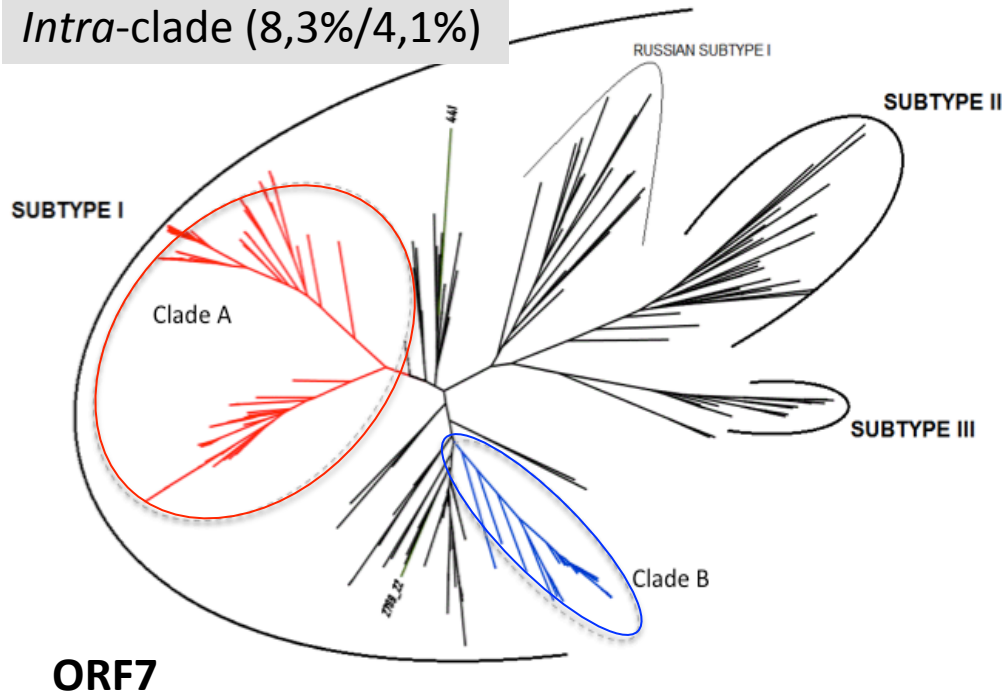
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

MAPS

Alcune esperienze italiane a livello globale e locale....



Inter-clade (12%)
Intra-clade (8,3%/4,1%)



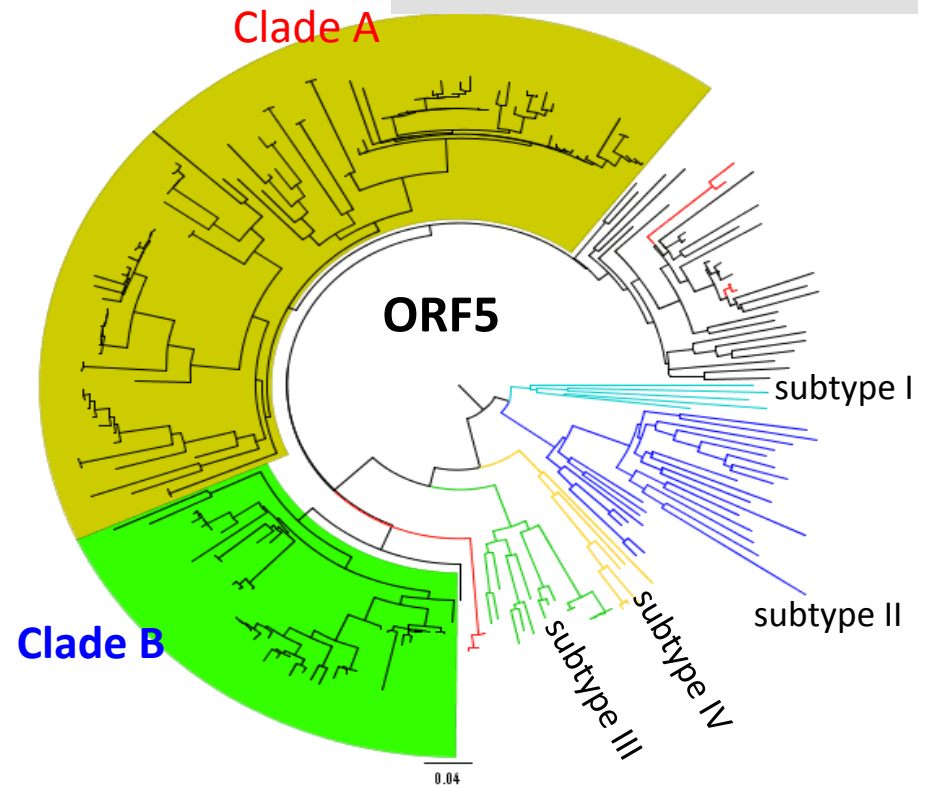
Due Clades principali ben distinti!

Drigo et al, 2014, J Virol Methods, (97sequenze)

+

Sequenze da GenBank (Forsberg-2002; Pesente-2006;
Stadejek-2008; Toplak-2012)

Inter-clade (15,3%)
Intra-clade (12,4%/8,8%)





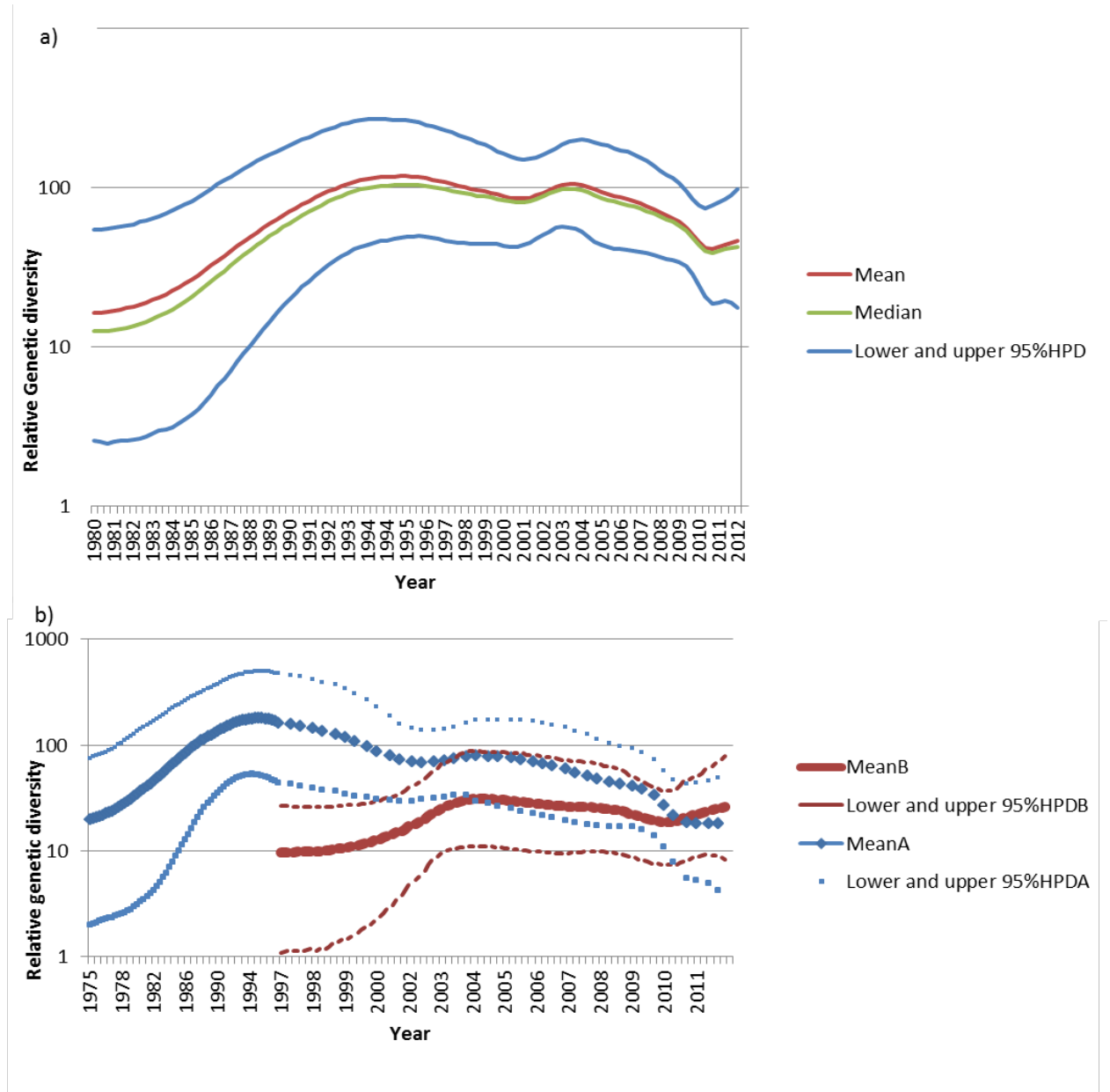
Cosa comporta una ampia variabilità genetica?

- 1) Differenti dinamiche delle diverse popolazioni virali nel tempo e nello spazio
- 2) Possibili ripercussioni su performances diagnostiche (PCR) - “mismatches”
- 3) Possibili ripercussioni sul rapporto virus-ospite



Cosa comportano DUE Clade?

- 1) Differente dinamica di popolazione virale nel tempo per origine, trend, evoluzione

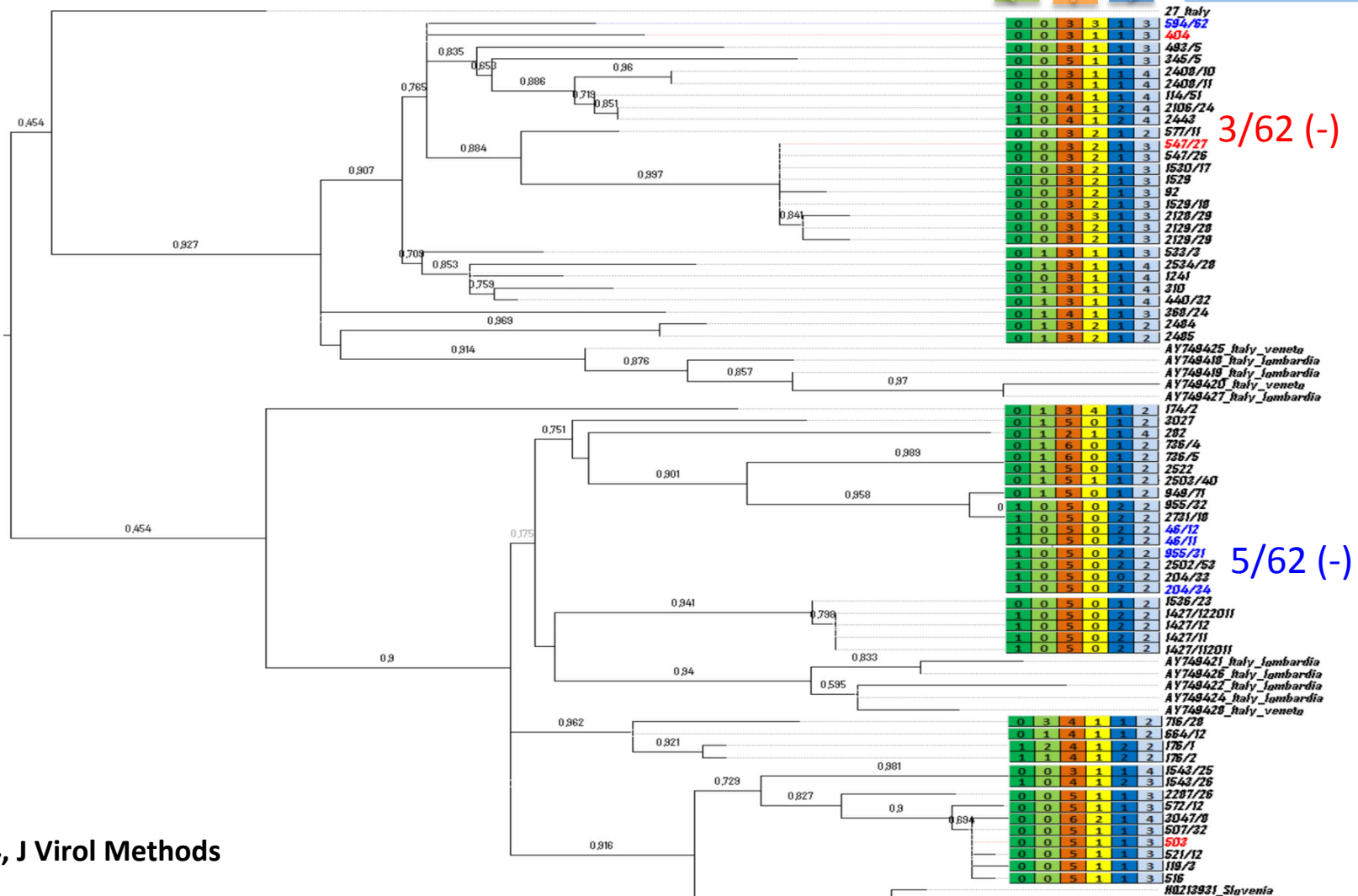




2) Possibili ripercussioni su performances diagnostiche (PCR) – “mismatches”



Clade A

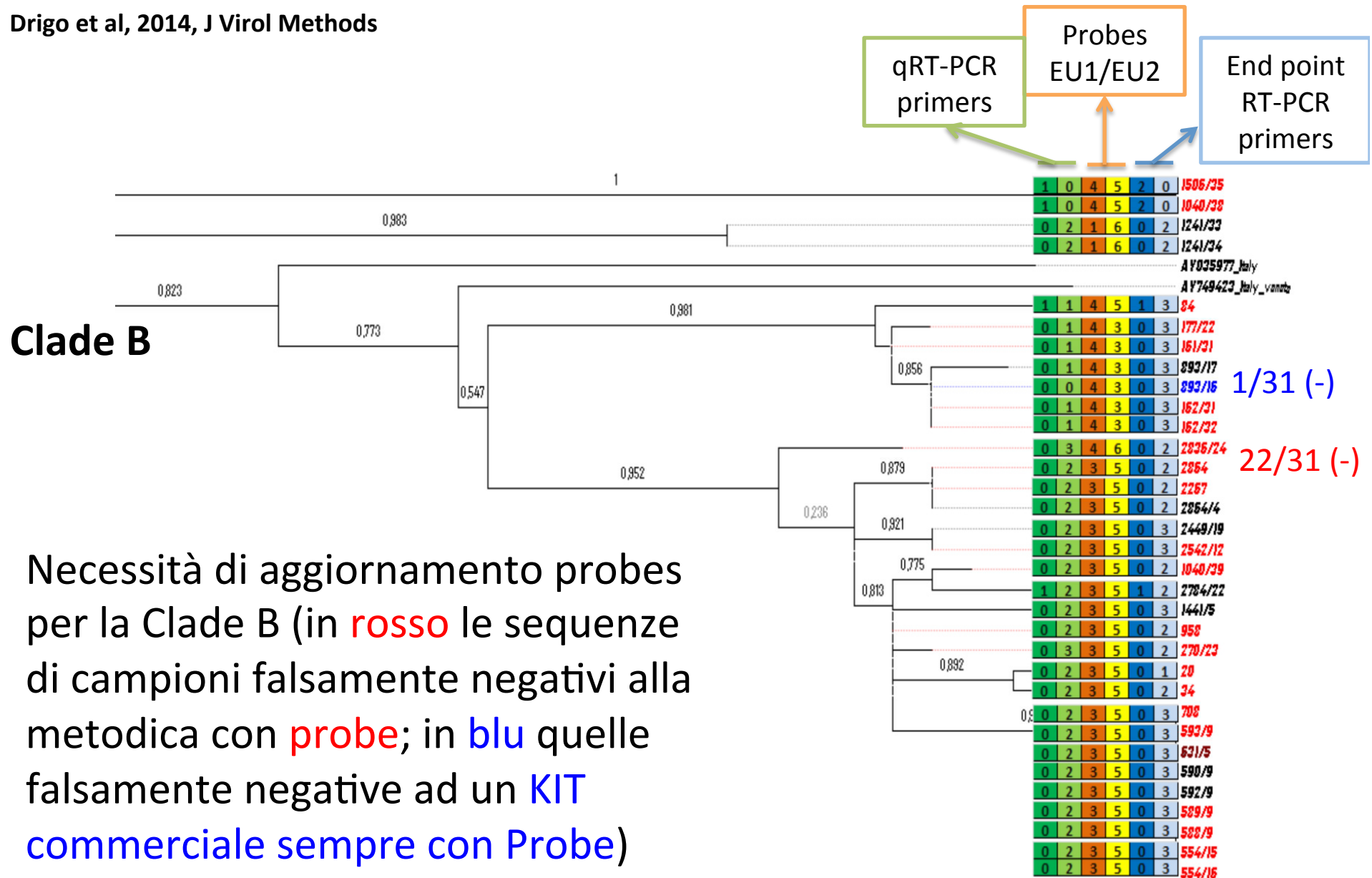


3/62 (-)

5/62 (-)



Drigo et al, 2014, J Virol Methods



Necessità di aggiornamento probes per la Clade B (in rosso le sequenze di campioni falsamente negativi alla metodica con probe; in blu quelle falsamente negative ad un KIT commerciale sempre con Probe)



Studio a livello LOCALE...

Albero filogenetico

ORF7

24 gruppi di scrofette (7 kg), acclimate con esposizione naturale, monitoraggio longitudinale e cross-sectional dello stipite circolante e sua diversificazione nel tempo;
Un episodio di PRRS reproductive!

PRRSV-2

Allevamento dello stesso proprietario

PRRSV-1

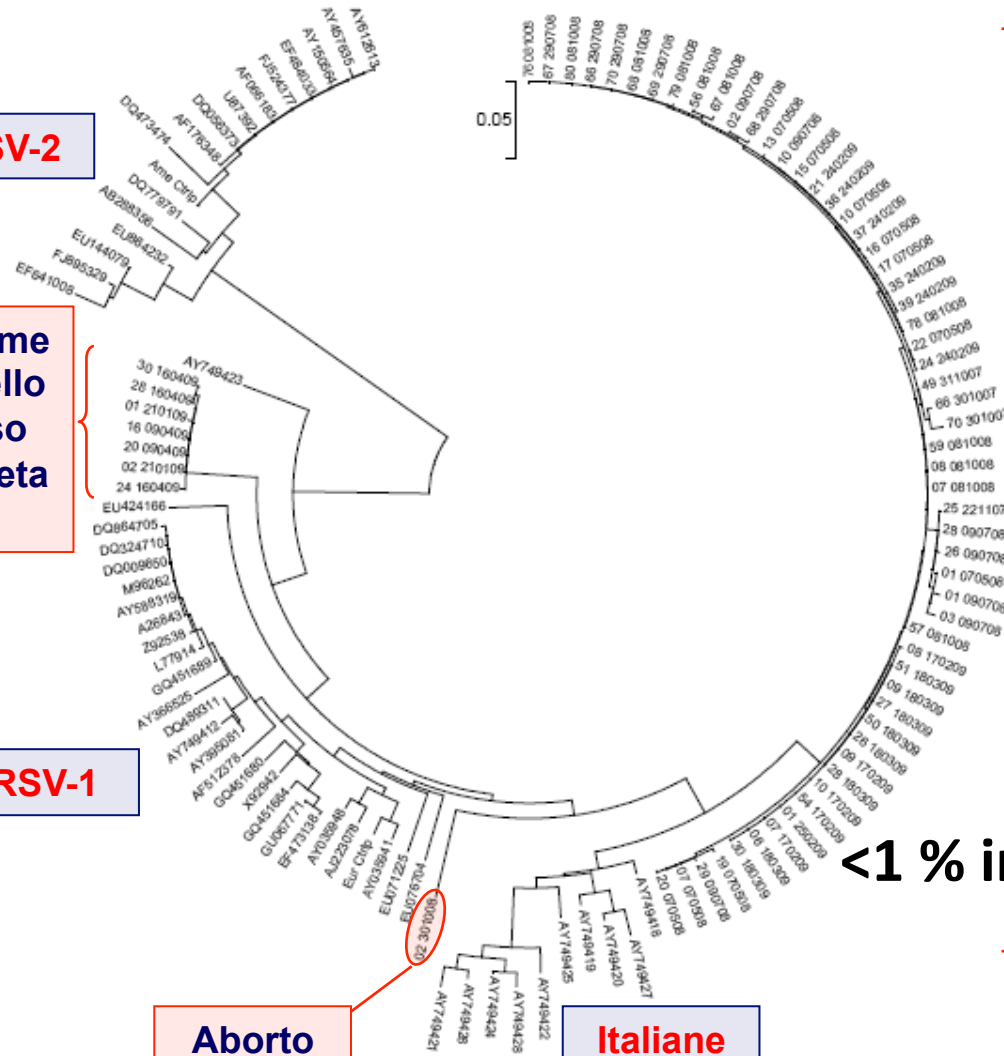
Aborto

>8%

Italiane

<1% in 24 mesi

All
ev
a
m
e
n
t
o





La ricombinazione genetica aumenta la diversità genetica di PRRSV?

Stipiti di PRRSV-1 possono ricombinare

Stipiti di PRRSV-2 possono ricombinare

La ricombinazione tra PRRSV-1 e PRRSV-2
non è mai stata evidenziata

La ricombinazione tra due stipiti è possibile solo se
infettano contemporaneamente una cellula ospite allo
stesso tempo (coinfezione)



Studio a livello GLOBALE...

Observation of high recombination occurrence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in field condition



Giovanni Franzo^a, Mattia Cecchinato^a, Marco Martini^a, Letizia Ceglie^b, Alessandra Gigli^b, Michele Drigo^{a,*}

^a Department of Animal Medicine, Production and Health (MAPS), Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

^b Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro (PD), Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Available online 21 August 2014

Keywords:

PRRSV
Italy
Recombination
ORF5
ORF7

ABSTRACT

Recombination in Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) is a well-documented phenomenon. A high recombination frequency has been reported in experimental conditions both *in vitro* and *in vivo*, and its role in driving viral evolution has been postulated by several authors. However field evidences are rare, mainly obtained from large-scale sampling and typically represented by single sequences rather than by groups of circulating “recombinant progenies”. The present work was aimed to investigate the gray area between experimental studies and large-scale epidemiological investigations. The study was performed on ORF5, ORF7 and concatenated sequences obtained in our laboratory or available in GenBank collected between 2009 and 2012 in northern Italy. Six independent recombinant strains out of 66 concatenated sequences (~9%) were found, demonstrating a high recombination frequency respect to previous field studies but comparable to *in vitro* experiments. *In silico* analysis let speculate that this new strain displayed physicochemical features diverse enough to potentially alter its immunological properties. Taken altogether, the results of our study support previous experimental evidences that depict PRRSV to be extremely prone to recombination. The limited temporal and geographical spread of recombinant strains however states in favor of a limited fitness of the recombinant progeny compared to parental strains and the marginal role of this phenomenon in PRRSV evolution.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

“6 delle 66 sequenze concatenate (ORF5+ORF7) erano ricombinanti”

“La limitata diffusione spazio temporale degli stipiti ricombinanti depone a favore di una limitata fitness dei ricombinanti rispetto agli stipiti parentali e quindi anche di un ruolo epidemiologico marginale di questo fenomeno”



AMERICAN
SOCIETY FOR
MICROBIOLOGY

genomeAnnouncements™

Complete Genome Sequence of a Recombinant Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Strain from Two Genotype 1 Modified Live Virus Vaccine Strains

Patricia Renson,^{a,d,f} Fabrice Touzain,^{c,d} Arnaud Le Bret,^g Mireille Le Dimna,^{a,d}
Hélène Quenault,^{c,d} Valérie Normand,^g Jean-Baptiste Claude,^e Floriane Pez,^e
Nicolas Rose,^{b,d} Yannick Blanchard,^{c,d} Olivier Bourry^{a,d}

- Allevamento francese che stava seguendo un programma di stabilizzazione, prima usando **UNISTRAIN (HIPRA)** e poi con **Porcilis PRRS (MSD)**
- Alla fine del 2013 una banda di 500 suinetti è stata vaccinata per sbaglio con entrambi i vaccini a poche settimane di distanza.
- Lo stipite PRRS-FR-2014-56-11-1 fu isolato dal siero di suinetti sani raccolto nel 2014
- 3 eventi di ricombinazione sono stati evidenziati tra UNISTRAIN (parente maggiore) e il Porcilis PRRS (parente minore) in ORF1
- **Nessun segno clinico osservato in allevamento!**



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

MAPS

**Le caratteristiche genetiche di uno stipite
determinano la sua patogenicità?**



Apparentemente Si...

Karniychuk et al. BMC Veterinary Research 2010, 6:30
http://www.biomedcentral.com/1746-6148/6/30



RESEARCH ARTICLE

Open Access

Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate

Uladzimir U Karniychuk¹, Marc Geldhof¹, Merijn Vanhee¹, Jan Van Doorselaere², Tamara A Saveleva³ and Hans J Nauwynck^{*1}

Veterinary Microbiology 163 (2013) 13–22

Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance

S.B. Morgan^{a,b}, S.P. Graham^a, F.J. Salguero^c, P.J. Sánchez Cordon^{a,d}, H. Mokhtar^a, J.M.J. Rebel^e, E. Weesendorp^e, K.B. Bodman-Smith^b, F. Steinbach^a, J.P. Frossard^{a,*}

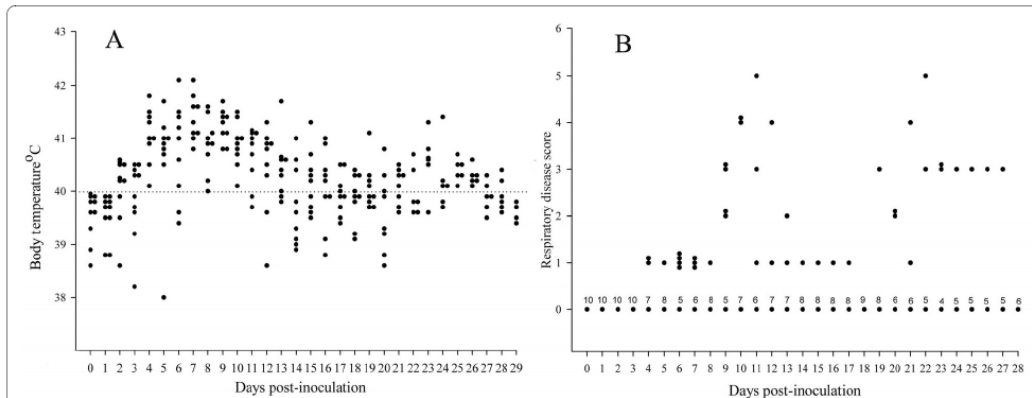


Figure 1 Body temperature and respiratory disease scores in pigs inoculated with PRRSV (Lena). (A) Body temperature of pigs at different time points post-inoculation with PRRSV Lena. Temperature >40°C was considered as fever (dotted line). (B) The respiratory disease scores ranged from 0 to 6: 0 = normal; 1 = mild dyspnea and/or tachypnea when stressed; 2 = mild dyspnea and/or tachypnea at rest; 3 = moderate dyspnea and/or tachypnea when stressed; 4 = moderate dyspnea and/or tachypnea at rest; 5 = severe dyspnea and/or tachypnea when stressed; 6 = severe dyspnea and/or tachypnea at rest. Stress was induced by holding the pig for 45 sec. The numbers above the dots represent the number of animals.

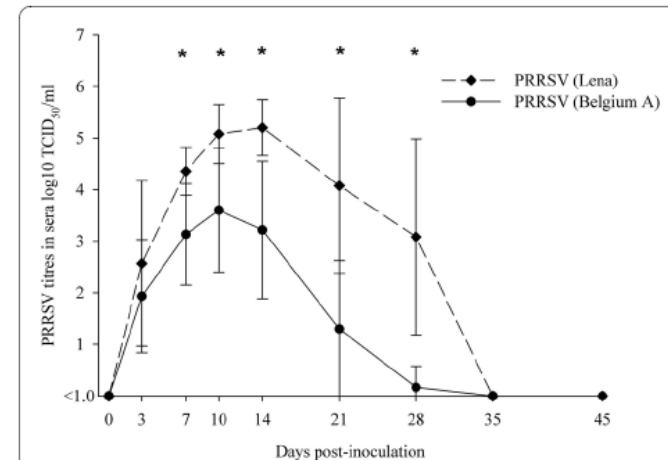
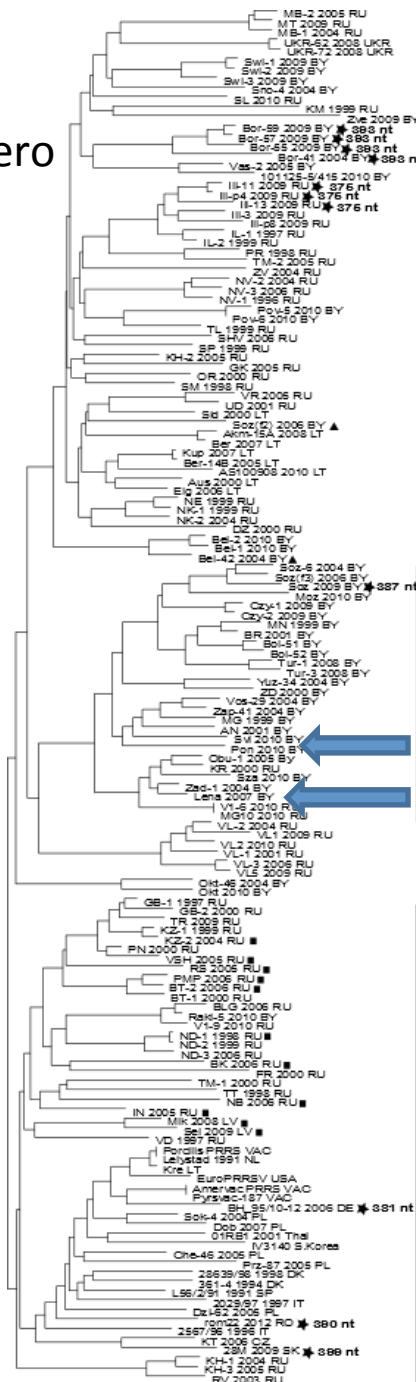


Figure 2 Virus titres in sera of pigs at different days post-inoculation with PRRSV (Lena) and PRRSV (Belgium A). Symbols represent mean titres, whiskers above and below are standard deviations. Titres lower than $10^{1.0}$ TCID₅₀/ml were considered to be negative. *The difference is significant between virus titres.

ORF5 albero

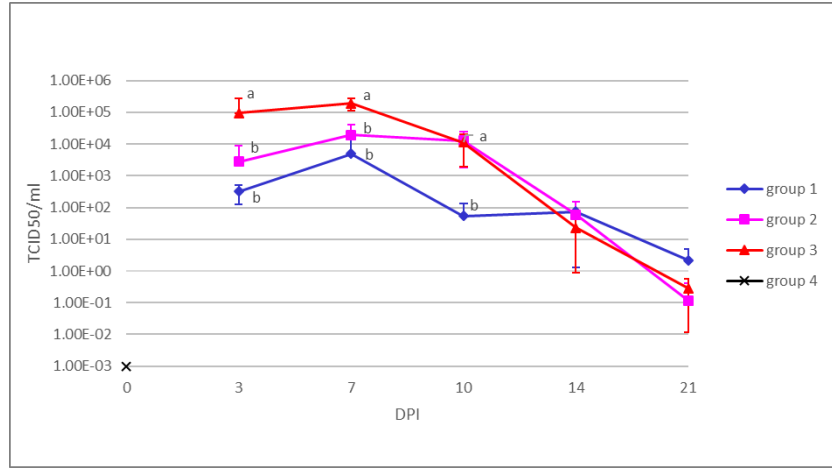
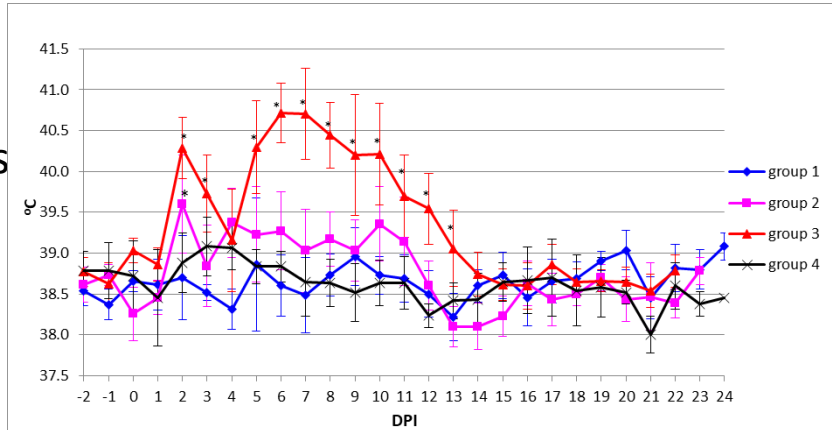


Bor, Bieloruss

Ili, Russia

SU-1 Bel
Lena

18794, Denmark



Lo stipite Bielorosso PRRSV-1 **BOR59 (group 3)** era significativamente più patogeno di altri stipiti impiegati nell'esperimento

Lo stipite Russo PRRSV-1 **ILI6 (group 2)** appena più patogeno dello stipite danese **18794 (group 1)**

18794, Denmark

[cortesia di Stadejeck]



Le caratteristiche genetiche di uno stipite determinano la sua patogenicità?

La risposta è SI, ma non sappiamo esattamente dove guardare!

Non sono stati ancora identificati i Marker di Virulenza!

...e poi PRRSV non agisce da solo...

Genetic and biological characterization of a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus 2 (PRRSV-2) causing significant clinical disease in the field

L.K. Kvisgaard^{a,*}, L.E. Larsen^a, C.K. Hjulsager^a, A. Bøtner^b, P.H. Rathkjen^c, P.M.H. Heegaard^a, N.P. Bisgaard^d, J. Nielsen^{b,1}, M.S. Hansen^a

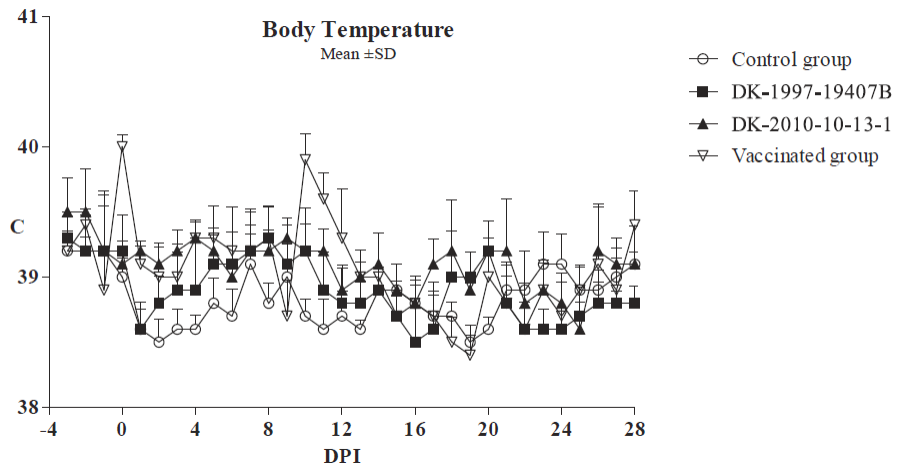
- Novembre 2010 un caso di PRRS molto grave (severe) avvenuto in ciclo chiuso dello Jutland (DK)
- Mortalità pre-svezzamento fino al 50%
- Fino al 70% di feti mummificati
- Campioni sono risultati positivi per PRRSV-2, e negativi per PCV2, PPV, leptospira

- Le perdite totali per la durata dell'episodio di 15 settimane sono state del 30%
- Le perdite medie in sala parto del 9.3%

- **E' entrato un nuovo stipite altamente patogeno in Danimarca??**

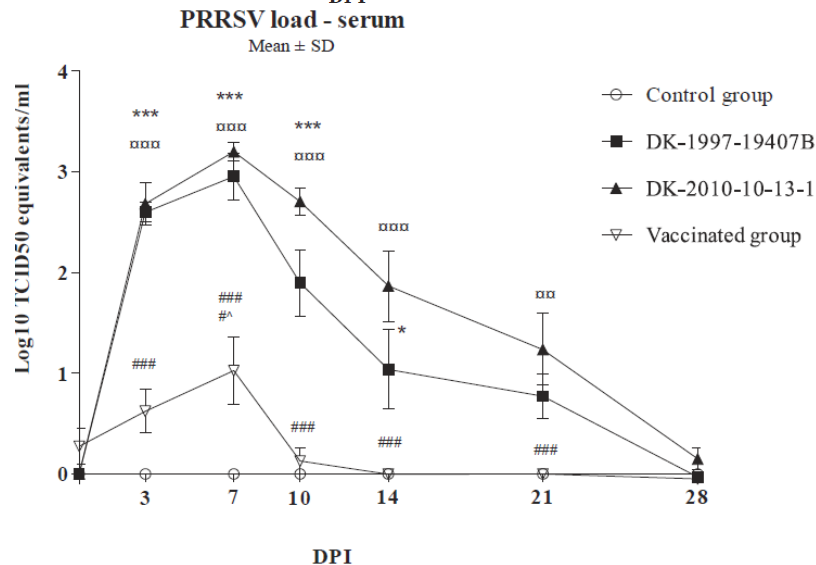
Infezione sperimentale

- Suinetti di 4 settimane negativi da patogeni specifici (Mhyo, PRRSV, App 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10)
- Vaccinazione con Ingelvac PRRS MLV e challenge con l'isolato dal caso clinico dello Jutland



- Lo stipte di PRRSV-2 isolato dal caso clinico era molto simile agli altri stipti danesi
 - “Ingelvac PRRS MLV related”
- Lo stipte di PRRSV-2 isolato dal caso clinico ha fallito nell'indurre segni clinici, lesioni patologiche e alti livelli di viremia

QUINDI:



- La gravità clinica in campo deve essere stata causata da altri fattori rispetto o in aggiunta a PRRSV
- I segni clinici in campo, non sono sempre affidabili indicatori della virulenza di PRRSV!



Perchè e Come fare diagnosi di PRRS?

- **Per diagnosticare la forma clinica (riproduttiva o respiratoria)**
 - **Rilievo tramite PCR di PRRSV in feti, polmoni**
- **Per diagnosticare la forma sub-clinica (performance ridotte)**
 - **Rilievo tramite PCR di PRRSV e altri fattori in gruppi che stanno performando male**
 - **Rilievo della sieroconversione tramite ELISA in gruppi che stanno performando male**



Perchè e Come fare diagnosi di PRRS?

- **Per pianificare e monitorare gli effetti di programmi di controllo**
 - **PCR** per il rilievo di PRRSV in suinetti svezzati durante il programma di stabilizzazione
 - **ELISA** per confermare l'esposizione delle scrofette (nei protocolli di acclimatemento)
 - **DNA** sequenziamento per identificare cambiamenti negli stipiti circolanti



Considerazioni sui Metodi diagnostici

- **La selezione del(i) metodo(i), e del campionamento dipende dall'obiettivo finale.**
- **Più ambizioso è l'obiettivo, più complesso il protocollo diagnostico deve essere**
 - Suino Infetto o non infetto?
 - Perché il programma di controllo della PRRS non funziona?
- **Sensibilità o Specificità?**
 - NON si possono massimizzare entrambe, si può solo ottimizzarle
 - Quale/cosa sacrificare?
- **Nessun metodo è perfetto, quindi meglio se sierologia, PCR e sequenziamento vengono combinati in modo sistematico e maniera logica.**



ELISA

PRO

- Elevato rendimento
- Veloce
- Poco costosa
- Abbastanza facile da eseguire
- **Ampia specificità per diverse varianti**



CONTRO

- Ritardo di rilievo dell'infezione
- **Conferma di esposizione (o di immunità passiva), non di stato di infezione e di stato immunitario**
- Utile per diagnosi di popolazione non per diagnosi su singolo
- Dovrebbe contenere entrambi i genotipi per una sensibilità ottimale
- **La discriminazione dei genotipi è difficile**
- **Possibile problema di singoli falsi positivi (scrofe! - IDEXX X3 100% Sp!)**



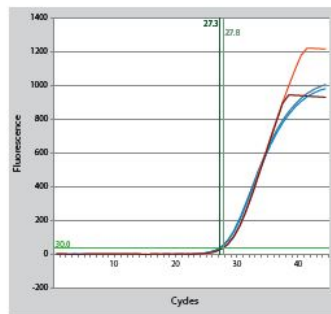
(RT-)PCR

PRO

- Permette di individuare singoli infetti
- Discrimina PRRSV-1 da PRRSV-2
- Campioni di popolazione possono essere eseguiti in **pool (con minima perdita di sensibilità)**
- Può essere impiegata su un ampio range di matrici, inclusi i **fluidi orali e il seme**

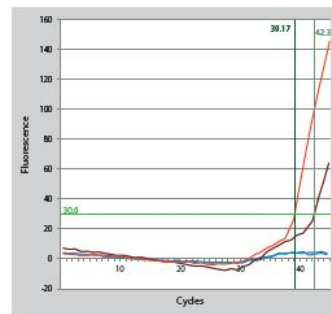
CONTRO

- Incline alla cross-contaminazione
- La Sensibilità è influenzata dalla variabilità genetica
- La Specificità è influenzata da reagenti e sonde ("**late raisers**")
...importanza del Ct value...



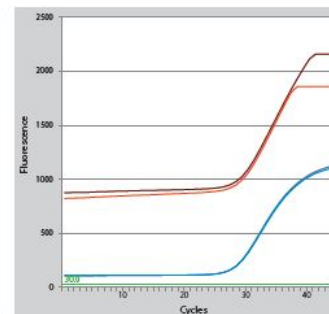
A. Saturation of Poorly Quenched FAM Probes.

Site ID	Sample ID	FAM C _t
A7	ZEN Double-Quenched Probe	27.29
A0	ZEN Double-Quenched Probe	27.38
B11	Single-quenched probe	27.86
B12	Single-quenched probe	27.91



B. FAM Signal Bleedover to Adjacent Channel.

Site ID	Sample ID	Cy3 C _t
A7	ZEN Double-Quenched Probe	0.00
A0	ZEN Double-Quenched Probe	0.00
B11	Single-quenched probe	42.90
B12	Single-quenched probe	39.17



C. Background Fluorescence.

Site ID	Sample ID
A7	ZEN Double-Quenched Probe
A0	ZEN Double-Quenched Probe
B11	Single-quenched probe
B12	Single-quenched probe



Differences in performance of commercial real-time RT-PCR kits in detection of diverse PRRSV strains

K. Podgórska*, K. Szymanek, K. Kus, K. Stepniewska and B. Malek
Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland

- 20 stipiti, differenti diluizioni
- **Type 1, sottotipi 2, 3, 4**
- **Type 2, inclusi HP-PRRS**
- 8 Kit commerciali Real-Time PCR

- I kit hanno trovato dal 50 al 95% dei campioni
- **Solo 3 kits (I, VII and VIII) hanno trovato tutti gli stipiti di PRRSV**
- **Il kit III non ha trovato nessuno degli stipiti sottotipo 3**

QUINDI: molti dei kit disponibili in commercio di real time RT-PCR non sono in grado di rinvenire i sottotipi est europei di PRRSV Type 1

[PRRS Symposium, Gent 2015]

Sample	Type/subt	Strain	Origin	Notes	Dilution series	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1				serum, exp. infection, pid 24		1	1	1	1	neg	1	1	1
2	1/1	18794_dks	Denmark	tonsils, exp. infection, pig2/pid 24		1	1	1	1	1	1	1	1
3				tonsils, exp. infection, pig1/pid 24		1	neg	1	1	1	1	1	1
4	1/1	13_19021	Poland	isolate		1	1	1	1	1	1	1/2	1
5	1/1	13_18230	Poland	isolate		1	1	1	1	1	1	1/2	1
6	1/1	13_20607	Poland	field sample, lungs		1	1	1	1	1	1	1/2	1
7	1/1-2 ^a	13_00779	Belarus	isolate		1	1	1	1	1	1	1	1
8	1/1-2 ^a	13_00999	Belarus	isolate		1	1	1	1	neg	1	1	1
9					N ^b	1	neg	neg	1	1	1	1	1
10	1/2	13_05301	Belarus	isolate	10-1	1	neg	neg	1	1	1	1	1
11					10-2	1	neg	neg	1	neg	1	1	neg
12					10-3	1	neg	neg	neg	neg	neg	1	neg
13	1/2	Bor	Belarus	lungs, exp. infection, pid 17		1	neg	1	neg	neg	1	1	1
14	1/2	Bor	Belarus	tonsils, exp. infection, pid 22		1	neg	1	1	1	1	1	1
15	1/2	Ili	Russia	serum, exp. infection, 17 dpi		1	neg	neg	neg	neg	neg	1	neg
16	1/2	Ili	Russia	tonsils exp. infection, pid 17		1	neg	1	neg	neg	1	1	1
17	1/2	Ili	Russia	tonsils, exp. infection, pid 23		1	1	1	neg	1	1	1	1
18	1/2	Ili	Russia	tonsils, exp. infection, pid 23		1	1	1	neg	1	1	1	1
19					N ^b	1	neg	neg	1	1	1	1	1
20	1/3	13_04929	Belarus	isolate	10-1	1	neg	neg	1	1	1	1	1
21					10-2	1	neg	neg	1	1	1	1/2	1
22					10-3	1	neg	neg	1	neg	1	2	1
23	1/3	13_05300	Belarus	isolate		1	neg	neg	1	1	1	1	1
24	1/3	12_13468	Belarus	field sample, ungs		1	neg	neg	1	1	neg	1	1
25	1/3	12_14991	Belarus	field sample, lungs		1	1	neg	1	1	1	1	1
26	1/3	12_09513	Belarus	field sample, lungs		1	1	neg	1	1	1	1	1
27					N ^b	1	1	1	1	1	neg	1	1
28	1/4?	13_00527	Belarus	isolate	10-1	1	1	1	1	1	neg	1	1
29	Atypical				10-2	1	neg	1	1	neg	neg	neg	neg
30					10-3	1	neg	neg	1	neg	neg	neg	neg
31	1/4	12_14989	Belarus	field sample, lungs		1	1	neg	1	1	1	1	1
32	2	11_15274	Poland	field sample, serum		2	2	2	neg	2	2	1/2	2
33	2	13_11363	Poland	field sample, lungs		2	2	2	2	2	2	1/2	2
34	2	13_12625	Ukraine	field sample, lungs		2	2	2	2	2	2	1	2
35					10-4	2	2	2	2/HP	2	2	2	2
36					10-5	2	2	2	2/HP	2	2	neg	2
37	2HP	Wie 13_1390	Vietnam	isolate, high pathogenic strain	10-6	2	2	2	2	neg	2	2	2
38					10-7	2	neg	2	neg	neg	2	2	neg
39					10-8	neg	neg	neg	neg	neg	neg	2	neg
40					10-9	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Samples pos						38	20	23	30	25	31	36	32
% of pos samples						95	50	57.5	75	62.5	77.5	90	80
No. of strains not detected						-	5	7	2	1	2	-	-



Evoluzione PRRSV e diagnostica:

1. Non esiste una PCR che vada bene per tutti i sottotipi e alcuni metodi risentono anche dell'influenza del Clade!
Quindi in situazioni particolari, accoppiare più test!
2. Diagnostica biomolecolare va continuamente saggiata e aggiornata!
(ring test e confronto *in silico* con **sequenze**).
3. Necessità di sequenziare di più e anche porzioni diverse da ORF5 e ORF7, **condividendo le informazioni!**



Riassumendo alcuni concetti (1)

- I virus della PRRS sono virus continuamente e rapidamente evolutivi
- L'emergenza locale di varianti diverse di PRRSV sono molto più probabili come introduzioni da altrove

indicatori di bio(in)sicurezza

- Movimentazione di suini, camion, persone, vaccini vivi modificati...



Riassumendo alcuni concetti (2)

- La complessa natura della PRRS richiede protocolli diagnostici solidi e **strumenti propriamente validati** ma allo stesso tempo anche strategie di **controllo complesse e basate sulle evidenze**
[IDEXX X3 ELISA rimane il gold standard per la diagnosi sierologica e il monitoraggio delle aziende suinicole]
- **L'analisi genetica non permette di predirre la virulenza di uno stivite di PRRSV o l'efficacia vaccinale ma è un essenziale strumento di monitoraggio della biosicurezza e di tracing epidemiologico!**



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

MAPS

Relax now...