

IL CONTROLLO DELLA PRRS

MICHELE DRIGO

*Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS),
Università di Padova, Legnaro, Italia*

INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni abbiamo conosciuto grandi miglioramenti nei sistemi di produzione zootecnica in generale e nella filiera suinicola in particolare. I contributi derivanti dalla ricerca nei settori della genetica, dell'alimentazione, della gestione dei flussi animali e della progettazione degli edifici, hanno contribuito a migliorare l'efficienza produttiva, la redditività e il benessere degli animali. Tuttavia, le malattie infettive rappresentano ancora oggi un grave ostacolo sulla strada della sostenibilità del settore suinicolo. A questo proposito la cooperazione e il coordinamento tra allevatori, produttori, veterinari e ricercatori, rappresentano un approccio imprescindibile per lo sviluppo di metodi sempre più efficaci e innovativi per il controllo delle malattie infettive degli animali allevati a scopi produttivi. Questo obiettivo è mirato non solo a contenere le perdite economiche, ma corrisponde anche alla necessità di ridurre l'utilizzo a scopo profilattico degli antibiotici e di aumentare il benessere degli animali, aspetti che hanno un impatto rilevante sulla salute pubblica, sull'opinione pubblica e sulle aspettative dei consumatori.

Più di 20 anni dopo il suo avvento, la PRRS continua ad avere grande impatto sulla salute e il benessere dei suini di tutto il mondo, causando sostanziali perdite economiche. Negli anni sono state implementate diverse strategie di controllo basate sulla gestione zootecnica, sull'applicazione di misure di biosicurezza e sull'utilizzo di vaccini con l'obiettivo di debellare la malattia. Nonostante questo il virus della PRRS è stato in grado di espandersi invadendo anche il continente asiatico con particolare aggressività e spesso riemerge negli allevamenti dopo l'eradicazione, indicando che le diverse strategie di controllo attuali non sono del tutto efficaci e che l'epidemiologia del virus è molto complessa.

Le difficoltà nel controllo della PRRS a livello globale dipendono dall'inadeguatezza o addirittura assenza di strategie di controllo in molti paesi nonché dalla mancanza di metodi diagnostici e strategie di controllo armonizzati e in alcuni casi specifici anche dalle scarse conoscenze sulla reale prevalenza della malattia.

In questo contesto, si è costituita una rete europea "EuroPRRSnet", finanziata dalla COST Action FA902 e dedicata alla comprensione e alla definizione di strategie di lotta verso la PRRS. Più di 20 paesi europei hanno aderito a questo network con lo scopo di sviluppare una ricerca multidisciplinare sulla PRRS favorendo la collaborazione e la costruttiva ed efficace discussione tra ricercatori provenienti da diversi paesi, inclusi Stati Uniti ed Asia, riguardo a epidemiologia, immunopatologia, sviluppo di vaccini e armonizzazione degli strumenti di diagnostica.

La PRRS va vista come una problematica sanitaria che mette in discussione l'alternativa classica "controllo vs eradicazione", poiché né azioni rivolte al controllo né azioni rivolte all'eradicazione garantiscono efficacia soddisfacente. Per comprendere meglio tale affermazione e calarla nel contesto odierno, il ragionamento deve ripercorrere alcuni aspetti fondamentali relativi alla epidemiologia, immunopatogenesi e diagnosi di PRRSV.

Considerazioni epidemiologiche

PRRSV è un patogeno emerso a livello globale tra la fine degli anni '80 e l'inizio degli anni '90, anche se analisi filogenetiche accurate collocano il più recente antenato comune per i due genotipi, l'Europeo EU (o Tipo 1) e l'Americano NA (o Tipo 2) almeno 100 anni indietro nel tempo, indicando che si sono evoluti separatamente prima della loro comparsa come entità cliniche (Shi et al., 2010; Stadejek et al., 2013).

All'interno del genotipo Tipo 1 solo il sottotipo 1 (prototipo Lelystad) circola in Europa centrale e occidentale. Nell'Europa dell'Est è stata evidenziata una variabilità sorprendente che ha condotto all'identificazione di nuovi sottotipi (il 2, il 3 e il 4). Questo rilievo dimostra una variabilità genetica anche più elevata di quella osservata nel genotipo NA in Nord America, complicando molto l'epidemiologia a livello mondiale di PRRSV. Gli stipiti del sottotipo 2 (prototipo Bor) e del sottotipo 3 (prototipo Lena) si sono dimostrati più virulenti di quelli appartenenti al sottotipo 1 (prototipo Lelystad), alcuni addirittura così virulenti e patogeni quanto quelli caratterizzati da "febbre alta" in Asia. Questi ultimi sono stipiti di una variante estremamente aggressiva di PRRSV Tipo 2, apparsa in Cina nel 2006, e che sta tuttora determinando grossi danni all'intera produzione suina asiatica caratterizzandosi per febbre alta e duratura, problemi sia riproduttivi che respiratori e alta mortalità.

Nei Paesi dell'Europa occidentale storicamente il virus PRRS è stato principalmente collegato a problemi riproduttivi con febbre e sintomi respiratori poco rappresentati (come riportato anche in studi sperimentali), facendo ipotizzare una stabilità evolutiva dal punto di vista patogenetico degli stipiti di PRRSV circolanti. Dalla metà del 2013 però, il virus della PRRS è stato identificato come responsabile di sintomi simil-influenzali in comparti di svezzamento in Belgio e probabilmente anche in Paesi confinanti. A conferma di ciò, uno studio sperimentale che ha previsto l'inoculo di uno di questi isolati, *Flanders-13*, ha consentito di registrare costantemente febbre alta e problemi respiratori (Nauwynck, EuroPRRS meeting, 2013).

I sottotipi appartenenti al PRRSV genotipo Tipo 1 mostrano anche differenze in termini di lunghezza della proteina del nucleocapside, di dimensioni variabili comprese tra i 124-132 amminoacidi a seconda del sottotipo. Sorprendentemente, tale variabilità colpisce la porzione C-terminale, solitamente contraddistinta da forti vincoli strutturali. Tale divergenza all'interno dei sottotipi di PRRSV genotipo Tipo 1 ha prodotto un alto tasso di risultati falsamente negativi di RT-PCR utilizzata a fini diagnostici (Toplak, 2012), e può anche ridurre l'affidabilità dei test sierologici che utilizzano come antigene la proteina del nucleocapside.

Gli stipiti americani, che derivano dal genotipo NA (Tipo 2), si sono evoluti velocemente grazie a fenomeni di ricombinazione e drift genetico, dando origine a nuovi stipiti più virulenti e difficili da controllare con i vaccini disponibili (PRRSV atipico o SAMS – *Sow Abortion and Mortality Syndrome*).

Il genotipo Tipo 2 di PRRSV in Europa è sempre apparso geneticamente omogeneo, considerata anche la sua introduzione, avvenuta tramite l'utilizzo di vaccini vivi attenuati. Sono però ormai evidenti successive introduzioni indipendenti di suoi stipiti di campo virulenti. È il caso dei due stipiti di PRRSV genotipo Tipo 2 circolanti in Slovacchia ed Ungheria che appartengono allo stesso cluster genetico MN184 derivante dal Nord America (Stadejek et al., 2013).

La diversità genetica ampia di PRRSV genotipo Tipo 1 in Europa, e la presenza di diversi stipiti di genotipo Tipo 2 di PRRSV, rendono evidente l'importanza di più ampi e sistematici studi di filogenesi molecolare per comprendere appieno l'epidemiologia di PRRSV in Europa, per mettere a punto strumenti diagnostici affidabili a supporto della gestione di questa malattia in allevamento e poter meglio valutare le potenziali conseguenze della diffusione endemica

del virus e di eventuali introduzioni esotiche.

Alcuni autori asseriscono inoltre che la ricombinazione sia un meccanismo che contribuisce in modo importante alla diversità genetica di PRRSV (Murtaugh et al., 2010), con effetti sulla patogenesi (Shi et al., 2013), sull'evasione dalla risposta immunitaria e sull'insuccesso diagnostico.

La capacità evolutiva di PRRSV impone di guardare a quest'aspetto con studi di evoluzione virale, sfruttando la capacità di analizzare in modo più esaustivo l'informazione genetica grazie alle moderne tecniche di sequenziamento (Martín-Valls et al., 2013). Se nel recente passato non era facilmente praticabile poter sequenziare l'intero genoma virale, attualmente sono disponibili infatti sistemi di sequenziamento più abordabili per costi e gestione (Kvisgaard et al., 2013).

Per ottenere il massimo beneficio dalle nuove tecniche di indagine andrebbero indagate sia situazioni problema che situazioni di relativa "pace clinica" sequenziando altre porzioni genomiche rispetto alle classiche ORF5 e ORF7. Infatti, queste hanno importanza da un punto di vista diagnostico (ORF7) e di epidemiologia aziendale, ovvero per la tracciabilità storica degli stipiti circolanti, ma non sono sufficienti per delineare a livello molecolare il rapporto virus-ospite in tutti i molteplici aspetti che governano tale interrelazione.

Proprio questo tema è stato oggetto di interesse nell'ambito dei lavori dello EuroPRRSnet, ponendolo al centro degli impegni di ricerca del prossimo futuro per arrivare alla definizione di strumenti di profilassi validi universalmente.

Immunopatologia

È plausibile che l'insorgenza della malattia in suini della stessa età sia il prodotto di 3 componenti distinte: i) la patogenicità del virus (non ancora ben compresa fino ad oggi); ii) la razza (susceptibilità: Hampshire > Large White > Duroc > Landrace) (Lewis et al., 2007) e il fenotipo (linee magre vs non magre); iii) le condizioni ambientali.

Tutti e tre questi fattori possono influenzare notevolmente l'insorgenza della malattia e/o la prevalenza a livello aziendale comportando una grande variabilità della forma clinica, da inapparente a letale, con ampie fluttuazioni della morbilità e letalità, e delle perdite economiche dirette e indirette (Zimmerman et al., 2006).

La malattia può avere talvolta estrema gravità, come nelle epidemie caratterizzate da "febbre alta" sostenute dagli stipiti cinesi e da alcuni stipiti di PRRSV identificati in Bielorussia (Karniychuk et al., 2010). In questi casi è molto probabile che la sinergia tra PRRSV e LPS batterici giochi un ruolo cruciale amplificando la risposta infiammatoria dei macrofagi infetti (Qiao et al., 2011). Infatti, un grave decorso clinico di PRRS si dimostra correlato a una forte risposta infiammatoria (Morgan et al., 2013).

La patogenesi di PRRSV è completamente governata dall'azione dei macrofagi tissutali; negli ultimi 20 anni gli stipiti del sottotipo 1 (prototipo Lelystad) hanno replicato con continuità nei suini, sfruttando come target i macrofagi portatori del recettore per la sialoadesina, presenti ad alte concentrazioni in vari tessuti quali tonsille, polmoni, linfonodi, milza, endometrio della scrofa e placenta. Tali macrofagi sono invece presenti in basse concentrazioni in tutti gli altri tessuti del suino.

PRRSV replica primariamente nelle tonsille e in parti più profonde del tratto respiratorio e poi nei tessuti linfoidi interni. Poiché le cellule muoiono per apoptosi, l'infiammazione è limitata e patologia e segni clinici sono moderati (genotipo Tipo 2 > genotipo Tipo 1). I monociti giocano un ruolo centrale nella risposta immunitaria innata e la loro distruzione durante l'infezione da PRRSV può portare a catastrofici segni clinici a seguito di co-infezioni con altri patogeni o esposizione a LPS batterici.

PRRSV attraversa la placenta solo dopo i 70 giorni di gestazione e questo si spiega secondo due ragioni: i) assenza del recettore per la sialoadesina sui macrofagi placentari nell'allantocorion e (ii) presenza di difesa efficace contro le cellule infettate da PRRSV.

Gli stipti di PRRSV appartenenti al sottotipo 3 (prototipo Lena) emersi in Europa Orientale differiscono immunopatologicamente rispetto a quelli simil-Lelystad perché sono in grado di infettare una nuova sottopopolazione di macrofagi tissutali che non possiedono il recettore per la sialoadesina, sfruttando probabilmente un nuovo recettore di membrana. L'aspetto cruciale di questa evidenza è che essendo questi macrofagi presenti ad alte concentrazioni nell'epitelio respiratorio, permettono una replicazione più intensa nei tessuti respiratori (fino a 10-100 volte rispetto agli altri stipti), conducendo a una più elevata eliminazione virale e ad una elevata viremia (fino a 100 volte maggiore). Questi stipti inoltre, sono responsabili di forme cliniche più aggressive con danni vascolari, febbre prolungata ed elevata, anche fino a 3-4 settimane in seguito a co-infezioni, poiché vengono invase e distrutte quelle cellule monocitiche epiteliali e sub-epiteliali, responsabili del contrasto all'attacco di altri agenti patogeni. Questo rilievo spiega anche come mai la sepsi sia regolarmente osservata negli animali infettati con stipti del sottotipo 3 (Lena) di PRRSV.

I nuovi stipti simil-Flanders-13 stanno evolvendo nella stessa direzione e, dato il loro tropismo, contrariamente a quanto avviene per gli stipti del sottotipo 1, è abbastanza facile rinvenirli nelle secrezioni nasali. La diagnosi eziologica può essere pertanto fatta più agevolmente da tamponi nasali sottoposti a titolazione virale mediante qRT-PCR che durante un episodio di sindrome riproduttiva in cui, data la patobiologia del fenomeno, il target diagnostico di qRT-PCR è costituito da cordone ombelicale e polmoni/milza fetali.

Novità sullo sviluppo di vaccini per la PRRS

Il virus della PRRS è un obiettivo difficile per l'immunità come emerge da molti studi che descrivono le *défaillances* dei meccanismi immunitari a seguito dell'interazione virus/ospite: i) sono indotti bassi livelli di interferone; ii) anche se i titoli anticorpali si innalzano dopo circa 8 giorni dall'infezione, ci vogliono alcune settimane per rilevare una debole neutralizzazione; iii) le cellule natural-killer e i linfociti T-citotossici non sono efficaci.

Solo gli anticorpi neutralizzanti assieme a qualche altro non ben identificato meccanismo mediato da cellule killer del suino sono i meccanismi immunitari che possono agire nel contrastare PRRSV e che dovrebbero essere attivati dalla vaccinazione.

La continua variabilità genetica espressa da PRRSV lo rende un bersaglio dinamico e complica la realizzazione di una strategia vaccinale universalmente efficace. Nel prossimo futuro sarà imperativo che i vaccini siano facilmente adattabili, includendo rapidamente nella propria composizione stipti molto vicini a quelli circolanti nel territorio. Per realizzare ciò sono necessarie anche procedure di registrazione rapide per cambiare il virus vaccinale in breve tempo. In generale al fine di ridurre la replicazione del virus dopo infezione e bloccarne la trasmissione tra suini a livello aziendale, è importante avere:

- i) vaccini inattivati, per aumentare l'immunità umorale nelle scrofe in modo da proteggere i feti in utero da un'infezione transplacentare grazie alla presenza di anticorpi neutralizzanti nel sangue materno e per proteggere i suinetti dall'infezione durante le loro prime settimane di vita tramite anticorpi neutralizzanti nel colostro;
- ii) vaccini vivi attenuati o con vettore ricombinante da usarsi su animali da rimonta naive e suini da ingrasso. L'obiettivo è quello di ridurre la trasmissione di PRRS dalla madre al feto/neonato e tra i suini da ingrasso/riproduttori.

La tecnologia per realizzare efficaci vaccini inattivati adattabili è già disponibile come riportato da Karniychuk et al. 2012, dando luogo al primo vaccino inattivato di nuova generazione in

grado di aumentare il livello di anticorpi neutralizzanti e di dare una buona protezione negli animali naïve. Con questo vaccino, è possibile migliorare l'immunità umorale delle scrofe gravide, in particolare aumentare il titolo di anticorpi neutralizzanti, per assicurare la protezione dei feti in utero e la protezione dei suinetti tramite il colostro. È pertanto ideale richiamare l'immunità nelle scrofe a 60 giorni di gestazione, poco prima del periodo suscettibile di una diffusione transplacentare di PRRSV, e a 90 giorni di gestazione, poco prima del trasferimento transepiteliale di anticorpi dal sangue al colostro.

La vera sfida è di riuscire a sviluppare vaccini vivi attenuati con vettori ricombinanti che diano la migliore immunità protettiva a scrofette naïve e suini da ingrasso a una condizione garantendo una stretta correlazione tra stipiti vaccinali e stipiti di campo. Considerando gli aspetti di sicurezza i vaccini ricombinanti sono preferibili, meglio se di tipo DIVA, cioè che consentano di seguire l'impatto della vaccinazione sulla circolazione del virus selvaggio.

Tramite sistemi di *reverse genetic*, i geni che codificano per i fattori di virulenza e per le proteine/peptidi in grado di sopprimere la risposta immunitaria dovrebbero essere rimossi mentre i geni che codificano le proteine/peptidi coinvolti nell'immunità protettiva dovrebbero essere mantenuti, anzi possibilmente modificati per migliorarne l'immunogenicità. Un'altra frontiera potrebbe essere quella di ingegnerizzare vaccini ricombinanti, rendendoli vettori solamente di fattori di immunogenicità. Poiché nel caso di questi vaccini ricombinanti non sono espressi i fattori di soppressione della risposta immunitaria, questi possono indurre una forte immunità soprattutto quando somministrati per via intranasale. Nel momento in cui questi vaccini vivi potranno essere sviluppati in modo riproducibile, potranno velocemente essere adattati agli stipiti emergenti.

Aspetti diagnostici biomolecolari

L'RT-PCR è un metodo ampiamente utilizzato per l'identificazione di PRRSV, perché è uno strumento diagnostico rapido, sensibile e altamente specifico. Tuttavia, la profonda diversità e rapida evoluzione genetica degli stipiti di PRRSV complica lo sviluppo di metodi altamente sensibili e robusti. Diversi fattori devono essere presi in considerazione quando venga usata l'RT-PCR per la diagnosi di PRRSV.

Una grande varietà di diversi saggi e protocolli di RT-PCR sono utilizzati in laboratori diagnostici pubblici e privati in tutta Europa, ma solo alcuni di questi sono stati pubblicati e i dati di convalida in generale non sono disponibili. Uno degli sforzi maggiori che andrebbe perseguito dovrebbe essere quello di proporre attività di ricerca con l'obiettivo di migliorare, validare, implementare e standardizzare le procedure diagnostiche utilizzate in Europa e nel mondo. Recentemente, un Ring Test per valutare real-time RT-PCR come metodi di rilevamento di PRRSV in diversi laboratori europei ha dimostrato che nessuna delle metodiche in-house o dei kit commerciali testati, è stata in grado di identificare tutti i diversi ceppi di PRRSV con una sensibilità analitica e diagnostica ottimale (Wernike et al. 2012). Per questo motivo si suggerisce sempre di combinare più metodi assieme.

Inoltre, PRRSV è un virus a singolo filamento di RNA, soggetto a deriva antigenica. Alcuni studi hanno dimostrato che in alcuni paesi europei come Lituania, Lettonia, Bielorussia e Russia circolano stipiti straordinariamente diversi di PRRSV genotipo Tipo 1 (Stadejek et al. 2008). Gli allineamenti delle sequenze di questi stipiti con quelle dei primer e delle sonde dei saggi di RT-PCR pubblicati per PRRSV hanno indicato che la maggior parte non sarebbe in grado di riconoscere questi stipiti recenti. L'aggiornamento dei dati di sequenza di PRRSV provenienti da molte parti d'Europa è molto scarso e quindi non è facile quantificare le probabilità di falsa negatività dei vari saggi in uso. Pertanto è evidente che vi è una necessità di programmi di sorveglianza al fine di controllare continuamente la deriva di

PRRSV mediante il sequenziamento dei sottoinsiemi di stipiti circolanti e la costruzione di un database di sequenze di PRRSV congiunto e accessibile al pubblico. Il sequenziamento che tradizionalmente si concentra sui segmenti ORF5 e ORF7, non può più limitarsi ad essi. Attualmente però le sequenze complete del genoma di stipiti di PRRSV depositate in GenBank non sono molte, e solo aumentandone il numero si potrebbe provare ad individuare altre regioni conservate rispetto al diffuso ORF7, che possano diventare il target diagnostico di saggi di real-time RT-PCR sensibili e robusti.

Infine, per ottimizzare le prestazioni diagnostiche di saggi RT-PCR, è necessario implementare per ogni campione diagnostico sistemi di controllo interno anche per le procedure di estrazione di RNA. Parallelamente, è molto importante controllare costantemente primer e sonde nella loro capacità di rilevare nuove varianti di PRRSV sia tramite adeguate analisi *in silico* che tramite la partecipazione a ring trials.

Considerazioni sul controllo di PRRSV a livello di area

L'implementazione di programmi di eradicazione a livello di area geografica trova motivazioni nella necessità di incrementare i profitti. Il processo deve essere guidato da comunicazione, educazione e controllo a livello locale. Un immediato beneficio in un simile scenario deve essere il miglioramento generale della biosicurezza e un'augmentata attenzione all'impatto delle malattie infettive sul sistema produttivo. Nel medio termine questi sforzi dovrebbero culminare nella stabile eliminazione di PRRSV, seguita nel lungo termine dall'eliminazione di altre malattie infettive, grazie alle infrastrutture che si sono sviluppate.

Esiste un crescente interesse in diversi Paesi nell'implementare piani di controllo ed eliminazione di PRRSV a livello di area geografica. In Danimarca nel 2013 si è costituito un gruppo di esperti a cui il Ministero dell'Agricoltura ha commissionato la redazione delle linee guida di un piano nazionale di eradicazione per PRRSV e stima dei relativi costi.

In Belgio sono riportati alcuni progetti locali di controllo basati sul mantenimento della negatività di centri verri, sia in aree ad alta che a bassa densità di suini.

L'Ungheria nel 2013 ha pianificato un programma di controllo ed eliminazione a livello nazionale, regolato dal Ministero dell'Agricoltura, basato sull'obbligatorietà per ogni allevamento di definire il proprio status sanitario per PRRSV tramite screening sierologico gestito da un Laboratorio Nazionale di Referenza e a carico dell'allevatore. A seguito di risultato sieropositivo deve essere pianificato un piano di eradicazione per l'allevamento. Animali da rimonta possono essere introdotti nel territorio ungherese solo da centri PRRSV-free (con risultati diagnostici negativi non più vecchi di 14 giorni), devono essere mantenuti in quarantena per almeno 60 giorni e testati al momento del loro arrivo e successivamente entro l'inizio dell'ultima settimana di quarantena.

Negli Stati Uniti programmi di controllo ed eradicazione a livello locale sono stati avviati su base volontaria già da alcuni anni come ad esempio nella Stevens County in Minnesota. PRRSV è stato eliminato dalla maggior parte dei siti all'interno della regione e l'area interessata è stata via via ampliata per includere contee adiacenti. Il programma ha avuto un discreto successo e dimostra l'esistenza di organizzazione a livello locale, spirito di cooperazione e volontà di eliminare il virus dalla regione (Corzo et al., 2010). In Nord America il concetto di un controllo, voluto dai produttori, su base volontaria e coordinato a livello regionale, si è ormai radicato portando all'attuazione di circa una ventina di altri programmi simili a livello regionale. Nelle regioni ad alta densità suinicola degli Stati Uniti, un numero crescente di allevamenti sta modificando il sistema di ventilazione implementando sistemi di filtrazione dell'aria. Le analisi dei dati epidemiologici dimostrano una riduzione dell'85% dell'incidenza di focolai in questi allevamenti rispetto ai 5 anni precedenti l'implementazione di sistemi di filtrazione e le

analisi del ritorno economico dell'adozione di tali sistemi confermano come rappresentino un investimento attraente per le aziende situate in regioni ad alta densità di suini. Nel complesso, il controllo coordinato nelle regioni a bassa media densità suinicola e la filtrazione dell'aria in quelle ad alta densità hanno condotto ad un controllo efficace della PRRS, che rende credibile la sua eventuale eliminazione in un futuro prossimo.

In Italia al momento non esistono programmi coordinati per il controllo e l'eliminazione della PRRS, nemmeno a livello locale. La concentrazione geografica della produzione suinicola nelle regioni dell'Italia Settentrionale, la presenza di molti allevamenti a ciclo chiuso o comunque col magronaggio, in cui è difficile interrompere la circolazione virale e la mancanza di elevati livelli di biosicurezza omogeneamente diffusi sono le principali cause di questa situazione. Inoltre l'epidemiologia di PRRSV si dimostra più complessa per quanto riguarda la variabilità genetica degli stipti circolanti rispetto a quella di altri paesi europei e non è infrequente avere situazioni di circolazione contemporanea di più stipti a livello aziendale. In questo contesto veterinari e produttori agiscono principalmente attuando strategie di controllo il cui successo si fonda principalmente sulla buona gestione della scrofette da rimonta e sulla esistenza di piani di emergenza in grado di reagire quando si verifica un nuovo focolaio di malattia. Esperienze di eradicazione sono limitate solamente a livello di singoli allevatori/sistemi produttivi.

Considerazioni sul controllo di PRRSV a livello di azienda

Il controllo e l'eliminazione della PRRS sono ancora una sfida continua e frustrante per ricercatori, professionisti e allevatori. Le misure di controllo variano a seconda delle categorie di animali, dei sistemi di produzione adottati (ciclo chiuso, ciclo aperto, solo ingrasso) e del numero di siti in cui è diviso il sistema produttivo. In linea generale, l'obiettivo primario nel controllo della PRRS a livello aziendale è quello di produrre suinetti svezzati negativi alla PCR e le misure di controllo sono principalmente finalizzate a: i) indurre una risposta immunitaria protettiva e omogenea al virus residente in tutta la popolazione (evitando quindi la presenza di sub-popolazioni di animali suscettibili); ii) evitare l'ingresso e coesistenza di stipti geneticamente diversi (eterologhi) soprattutto con l'introduzione di animali infetti (scrofette da rimonta principalmente), sperma e altre potenziali fonti di virus. A questo scopo è sempre necessaria l'attuazione di rigide misure di biosicurezza: i) quarantena per gli animali da rimonta, che devono essere acclimatati e controllati prima della loro introduzione nel comparto produttivo; ii) controllo e disinfezione dei mezzi di trasporto in entrata; iii) gestione del personale in entrata, con un locale idoneo al lavaggio e al cambio d'abito; iv) divieto della libera entrata di estranei in allevamento. Non meno importanti sono le misure di biosicurezza interna, ovvero tutte le routine lavorative che minimizzano il trasferimento di materiale potenzialmente infetto tra i diversi comparti produttivi dell'allevamento.

La "stabilizzazione della mandria" è la base di qualsiasi programma di controllo in un allevamento da riproduzione. Un allevamento può essere definito come "stabile" quando non si registra trasmissione di PRRSV dalle scrofe ai suinetti sia prima (trasmissione verticale) che dopo la nascita (trasmissione orizzontale). Questa condizione può avvenire se non si hanno virus di nuova introduzione che infettano le scrofe gravide, e la popolazione è immune e protetta verso il virus residente.

A seguito di un focolaio di PRRS tale livello può essere raggiunto con la chiusura dell'allevamento, ovvero impedendo temporaneamente l'entrata di nuovi soggetti da rimonta per un tempo sufficientemente lungo (90-120 giorni), quindi introducendo rimonta negativa in combinazione con acclimatemento in locali di quarantena/isolamento (sito 0) e vaccinazione. In un allevamento a ciclo chiuso potrebbe anche essere necessario un depopolamento totale o parziale nei settori dello svezzamento e/o dell'ingrasso. Per ottenere invece l'eliminazione

del virus varie esperienze di campo indicano in almeno 210 giorni il tempo di chiusura dell'allevamento necessario a seguito di esposizione contemporanea di tutto l'effettivo o al/ai virus residente/i o a vaccinazione con vaccino vivo attenuato.

CONCLUSIONI

La natura di rapida evoluzione di PRRSV richiede un sistema altrettanto dinamico che riesca a tenerne il passo attraverso ricercatori motivati e promotori di continui approfondimenti accurati, informativi e condivisi. Queste conoscenze dovrebbero servire alla revisione e/o rafforzamento delle misure di controllo e allo sviluppo di vaccini efficaci. Sono già stati sviluppati software che consentono prestazioni *user-friendly* di analisi filogenetiche ma il reale successo e il valore di tali strumenti si collega strettamente alle iniziative individuali di voler condividere i dati di sequenza. Solo allora si potrà progredire realmente verso una prospettiva multidisciplinare di comprensione dell'evoluzione e dell'epidemiologia molecolare di PRRSV.

Ulteriori sforzi di ricerca devono ancora essere fatti per comprendere completamente i meccanismi che regolano l'interazione virus-ospite, soprattutto nelle condizioni di campo, in cui anche i fattori ambientali rivestono un ruolo cruciale nel determinismo della patologia.

La sfida dell'eradicazione di PRRSV non sembra realistica finché non saranno sviluppati strumenti di controllo più efficaci e approcci diagnostici armonizzati; inoltre, ma non secondariamente, per raggiungere un tale obiettivo è fondamentale che si progettino iniziative coordinate e adeguatamente supportate economicamente.

References

- Corzo C.A., Mondaca E., Wayne S., Torremorell M., Dee S., Davies P., Morrison R.B., 2010 "Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus". *Virus Res*, 154, 185-192.
- Karniychuk U.U., Saha D., Vanhee M., Geldhof M., Cornillie P., Caij A.B., De Regge N., Nauwynck H.J. (2012) "Impact of a novel inactivated PRRS virus vaccine on virus replication and virus-induced pathology in fetal implantation sites and fetuses upon challenge". *Theriogenology*, 78, 1527-37.
- Karniychuk, U.U., Geldhof, M., Vanhee, M., Van Doorselaere, J., Saveleva, T.A., Nauwynck, H.J. (2010) "Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate". *BMC Vet Res* 6, 30.
- Kvisgaard L.K., Hjulsager C.K., Fahnøe U., Breum S.Ø., Ait-Ali T., Larsen L.E. (2013) "A fast and robust method for full genome sequencing of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Type 1 and Type 2". *J Virol Methods*, 193, 697-705.
- Lewis C.R., Ait-Ali T., Clapperton M., Archibald A.L., Bishop S. (2007) "Genetic perspectives on host responses to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Viral Immunol*, 20, 343-358.
- Martín-Valls G.E., Kvisgaard L.K., Tello M., Darwich L., Cortey M., Burgara-Estrella A.J., Hernández J., Larsen L.E., Mateu E. (2013) "Analysis of ORF5 and full-length genome sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates of genotypes 1 and 2 retrieved worldwide provides evidences supporting that recombination is a common phenomenon and may produce mosaic isolates". *J Virol*. 2013 [Epub ahead of print].

Morgan S.B., Graham S.P., Salguero F.J., Sanchez Cordon P.J., Mokhtar H., Rebel J.M., Weesendorp E., Bodman-Smith K.B., Steinbach F., Frossard J.P. (2013) "Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance". *Vet. Microbiol*, 163, 13-22.

Murtaugh M.P., Stadejek T., Abrahante J.E., Lam T.T., Leung F.C. (2010) "The ever-expanding diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus". *Virus Res* 154, 18-30.

Nauwynck H.J. (2013) "The practical impact of PRRS pathogenesis on diagnostics and control". EuroPRRSnet COST Action FA902 Final meeting, Heraklion, Greece, 17-19 October 2013, 8-10.

Qiao S., Feng L., Bao D., Guo J., Wan B., Xiao Z., Yang S., Zhang G. (2011) "Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and bacterial endotoxin act in synergy to amplify the inflammatory response of infected macrophages". *Vet. Microbiol*, 149, 213-220.

Shi M., Holmes E.C., Brar M.S., Leung F.C. (2013) "Recombination is associated with an outbreak of novel highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in China". *J Virol*, 87, 10904-7.

Shi M., Lam T.T., Hon C.C., Hui R.K., Faaberg K.S., Wennblom T., Murtaugh M.P., Stadejek T., Leung F.C. (2010) "Molecular epidemiology of PRRSV: a phylogenetic perspective". *Virus Res*, 154, 7-17.

Stadejek T., Oleksiewicz M.B., Scherbakov A.V., Timina A.M., Krabbe J.S., Chabros K., Potapchuk D. (2008) "Definition of subtypes in the European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristics and geographical distribution in Europe". *Arch Virol*, 153, 1479-88.

Stadejek T., Stankevicius A., Murtaugh M.P., Oleksiewicz M.B. (2013) "Molecular evolution of PRRSV in Europe: current state of play". *Vet Microbiol*, 165, 21-8.

Toplak I., Rihtarič D., Hostnik P., Grom J., Stukelj M., Valenčak Z. (2012) "Identification of a genetically diverse sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Slovenia and the impact on the sensitivity of four molecular tests". *J Virol Methods*, 179, 51-6.

Wernike K., Bonilauri P., Dauber M., Errington J., LeBlanc N., Revilla-Fernández S., Hjulsager C., Isaksson M., Stadejek T., Beer M., Hoffmann B. (2012) "Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: interlaboratory ring trial to evaluate real-time reverse transcription polymerase chain reaction detection methods". *J Vet Diagn Invest*, 24, 855-66.

Zimmerman J., Benfield D.A., Murtaugh M.P., Osorio F., Stevenson G.W., Tottmorell M. (2006) "Porcine reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus)". In: Straw,B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire,S., Taylor,D.J. (Eds.), *Diseases of Swine 9th Edition*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 387-417.