

Patogenność, wykrywanie i zwalczanie wschodnioeuropejskich szczepów wirusa zespołu rozrodczo-oddechowego świń

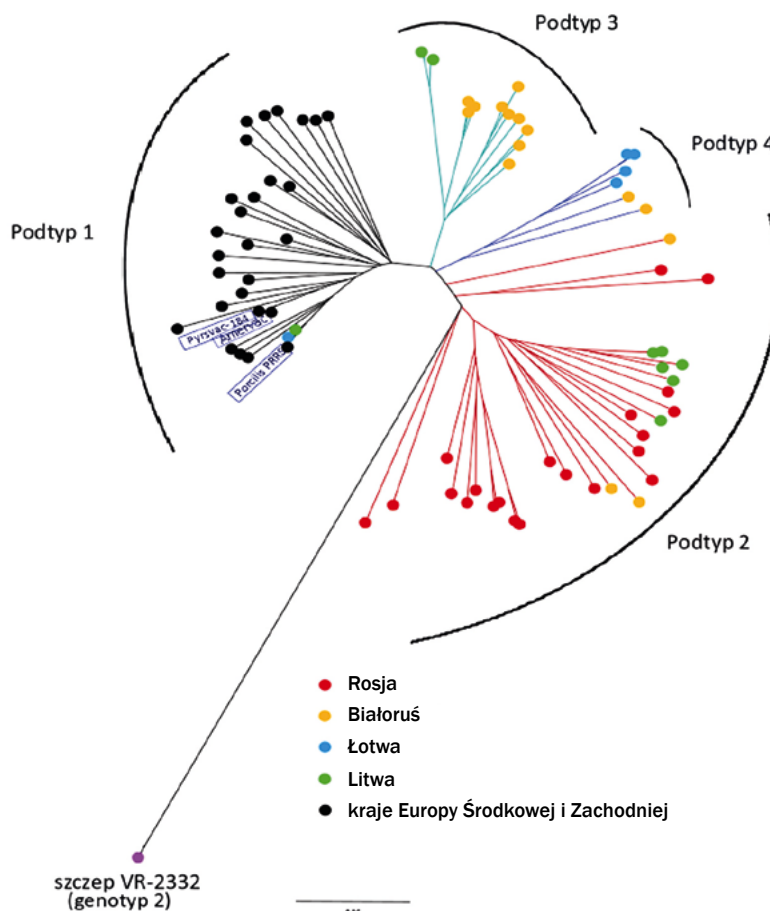
Katarzyna Podgórska, Daria Pławska

z Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach

Zespół rozrodczo-oddechowy świń (PRRS) jest zaliczany do najbardziej kosztownych chorób we współczesnej produkcji trzody chlewnej. Zakażenie wirusem PRRS (PRRSV) może wywoływać zaburzenia w rozrodzie i objawy oddechowe o różnym stopniu nasilenia, zależnie od czynników, takich jak wiek, linia genetyczna, status immunologiczny w momencie zakażenia czy zjadliwość danego szczepu wirusowego. Najbardziej jaskrawym przykładem olbrzymich strat ekonomicznych związanych z wysoką patogennością PRRSV są Chiny, gdzie na przełomie lat 2006/2007 szczep HP-PRRSV doprowadził do zniszczenia około 30% populacji świń w tym kraju. W Polsce i większości innych krajów Europy Środkowej i Zachodniej PRRS występuje dość powszechnie, a występujące szczepy PRRSV uznaje się za stosunkowo nisko zjadliwe. Jednak badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały, że za wschodnią granicą Polski występują odmienne genetycznie szczepy PRRSV, charakteryzujące się wyższym poziomem patogenności w porównaniu do szczepów z pozostałej części Europy. Zaliczono je do nowych podtypów 2 i 3, natomiast klasyczne szczepy PRRSV z genotypu 1 występujące w Europie Środkowej i Zachodniej zostały zgrupowane w podtypie 1. Problemy związane z ryzykiem potencjalnej introdukcji tych szczepów do populacji świń w krajach UE oraz ich zwalczania poruszane były m.in. w czasie ubiegłorocznego sympozjum zarządzania zdrowiem świń (ESPHM) w Pradze.

Wirus PRRS obejmuje dwa genotypy – genotyp 1 (wcześniej określany jako europejski, EU-PRRSV) i genotyp 2 (wcześniej amerykański, NA-PRRSV). Pierwotne nazewnictwo, wskazujące na występowanie geograficzne genotypów zostało zastąpione ze względu na ich globalizację, nadal jednak genotyp 1 dominuje w krajach europejskich, natomiast genotyp 2 – w Ameryce i Azji. Ogromna większość szczepów z genotypu 2 stwierdzonych w Europie to szczepy pochodzenia szczepionkowego. Genotyp 1 stosunkowo niedawno, po wykryciu nowych szczepów w Rosji, na Litwie, Łotwie i Białorusi, podzielono na dalsze podtypy 1–3. Wiele wskazuje także na istnienie przynajmniej jednego dodatkowego podtypu 4 w tym samym regionie (1)

(ryc. 1). Podtyp 1, obejmujący także szczepy występujące w Polsce, występuje w Europie Środkowej i Zachodniej, a także w USA i niektórych krajach Azji, natomiast w Europie Wschodniej występuje stosunkowo rzadko. Tak duże zróżnicowanie genetyczne szczepów PRRSV w tym regionie sugeruje, że może to być obszar pierwotnej ewolucji PRRSV, z którego rozprzestrzenił się on na inne kraje (1). Szereg doświadczeń obejmujących zakażenie świń w warunkach eksperymentalnych wykazało podwyższoną patogenność szczepów wschodnioeuropejskich w stosunku do szczepów z podtypu 1, powszechnie występujących w Polsce i innych krajach Europy Środkowej i Wschodniej. W związku z tym potencjalna introdukcja tych szczepów wirusowych mogłaby spowodować bardzo poważne straty ekonomiczne.



Ryc. 1. Drzewo filogenetyczne obrazujące podtypy w ramach genotypu 1 oraz ich występowanie (na podstawie ORF5)

Pathogenicity, detection and control of Eastern European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus

Podgórska K., Pławska D., Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Puławy

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is considered to be one of the economically most important swine disease. The etiological agent, PRRS virus, has an extreme genetic variability, that seriously affects diagnostics and control of this disease. Two genotypes of PRRSV were distinguished, namely Type 1, dominating in Europe and Type 2, dominating in North America but also identified in Asia. Type 1 has been further divided into subtype 1, common in Central and Western Europe, and relatively recently described subtypes 2-4, present in Eastern European countries. New data have clearly shown that PRRSV strains of subtypes 2 and 3, that are circulating in countries bordering with Poland, have much higher pathogenicity when compared to classical PRRSV strains present in most European countries. This paper summarizes results of experimental studies focusing on the characteristics of the new, more pathogenic PRRSV subtypes, and presents data on their detection and control.

Keywords: porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRSV, subtypes pathogenicity.

Charakterystyka patogenności szczepów wschodnioeuropejskich

W pierwszym doświadczeniu porównującym przebieg zakażenia wschodnioeuropejskim szczepem PRRSV do klasycznych szczepów europejskich stwierdzono wyraźne różnice zjadliwości (2). W badaniach zastosowano szczep Lena z podtypu 3 pochodzący z Białorusi oraz szczep belgijski z podtypu 1. U trzech z sześciu świń w grupie zakażonej szczepem belgijskim wystąpiła anoreksja i niewielkie podwyższenie temperatury ciała w 3, 4 i 5 dniu po zakażeniu (dpi). Z kolei w grupie zakażonej szczepem Lena stwierdzono wysoką gorączkę, ostre objawy oddechowe, letarg i anoreksję u większości świń od 2 do 28 dpi. Cztery z 10 świń z tej grupy padły. Poziom wiremii był istotnie wyższy w przypadkach szczepu Lena między 7 a 21 dpi i wynosił $10^{4,8}$ do $10^{6,1}$ TCID₅₀/ml w porównaniu do $10^{3,1}$ do $10^{4,8}$ TCID₅₀/ml w przypadku szczepu belgijskiego. Stwierdzono także wyższy stopień replikacji szczepu Lena w wymazach z nosa, zeskrobinach z migdałków, a także w płucach, migdałkach i węzłach chłonnych. W dwóch przypadkach stwierdzono obecność zakażeń *Arcanobacterium pyogenes* lub *Streptococcus suis*, co może wskazywać na pewien udział koinfekcji w tak ostrym przebiegu zakażenia. W kolejnych doświadczeniach nie stwierdzono śmiertelności po zakażeniu szczepem Lena, potwierdzono jednak ostrzejszy przebieg zakażenia i wykazano upośledzenie odpowiedzi immunologicznej także przeciwko innym patogenom (3). U świń zakażonych szczepem Lena stwierdzono wyższy poziom wiremii, mniejszą liczbę komórek wydzielających interferon gamma, zmiany w poziomie cytokin i leukocytów, a także opóźnienie produkcji przeciwciał w odpowiedzi na szczepienie przeciwko wirusowi choroby Aujeszkyego (ADV). Co ciekawe, pomimo podobnych wyników w zakresie podwyższonej zjadliwości, nie stwierdzono wpływu na odpowiedź poszczepienną ADV w przypadku innego szczepu z podtypu 3, SU1-bel (4).

W celu oceny patogenności wschodnioeuropejskich szczepów PRRSV z podtypu naukowcy z SGGW i PIWet-PIB we współpracy z Danish Technical University przeprowadzili badania na zwierzętach z wykorzystaniem dwóch szczepów z Białorusi i Rosji należących do podtypu 2, oraz klasycznego szczepu z podtypu 1 wyizolowanego w Danii. W badaniach wykorzystano 4 grupy liczące po 7 świń SPF. Trzy grupy zakażano donosowo jednym ze szczepów PRRSV z podtypu 2 (Ili lub Bor) oraz duńskim izolatem 18794 należącym do podtypu 1, czwarta grupa otrzymała placebo.

Najsilniejsze objawy kliniczne zaobserwowano w grupie zakażonej białoruskim szczepem Bor, w której u wszystkich świń wystąpiły różnego stopnia zaburzenia oddechowe,

letarg, obrzęk spojówek i obniżenie spożycia paszy. W pozostałych grupach łagodne objawy kliniczne wystąpiły w pojedynczych dniach jedynie u 3 świń. W grupach zakażonych szczepami z podtypu 2 stwierdzono statystycznie istotne podwyższenie temperatury ciała w 2 dpi, które utrzymywało się do 13 dpi w grupie Bor. W tej samej grupie stwierdzono najwyższy poziom wiremii we wczesnych dniach po zakażeniu (3–7 dpi), a także najsilniejszą odpowiedź w zakresie białek ostrej fazy. Poziom białka C-reaktywnego (CRP) gwałtownie wzrósł w grupach zakażonych szczepami Bor oraz Ili, natomiast wzrost poziomu haptoglobiny zaobserwowano jedynie w grupie zakażonej szczepem Bor. U świń zakażonych szczepem Bor stwierdzono także najsilniejsze zmiany anatomopatologiczne w płucach oraz zmiany histopatologiczne w płucach i tchawicy. W grupie Bor stwierdzono śródmiąższowe zapalenie płuc o średnim lub ostrym charakterze, w grupie zakażonej szczepem duńskim stwierdzono łagodne lub średnie nasilenie zmian zapalnych w płucach, natomiast w grupie Ili nie stwierdzono zmian zapalnych w momencie eutanazji. Uzyskane wyniki wskazują, że poziom patogenności wśród szczepów należących do podtypu 2 genotypu 1 jest zróżnicowany. Jeden ze szczepów użytych w doświadczeniu wykazał cechy wysokiej patogenności, zbliżonej do szczepów podtypu 3 Lena i SU1-bel (5).

Najnowsza publikacja na ten temat opublikowana przez grupę badaczy z Rosji wskazuje na jeszcze wyższy poziom zjadliwości szczepu WestSib13 z podtypu 2, zbliżony do wysokopatogennych szczepów azjatyckich HP-PRRS (6). Wszystkie 5 świń zakażonych szczepem z podtypu 2 padło po 5–8 dniach po zakażeniu z objawami oddechowymi. Sekcyjnie u wszystkich zwierząt stwierdzono odoskrzelowe zapalenie płuc. Około 6–12 godzin przed padnięciem u świń wystąpiła drżączka, natomiast pomimo wysokiego poziomu wiremii i intensywnej replikacji wirusa, nie stwierdzono podwyższonej temperatury ciała. Autorzy sugerują, że mogło to być spowodowane wytworzeniem tolerancji immunologicznej. Tak wysoka śmiertelność uzyskana w opisanym doświadczeniu po zakażeniu szczepem WestSib13 mogła być do pewnego stopnia wynikiem koinfekcji innymi patogenami, jednak autorzy przeprowadzili jedynie badania w kierunku najczęściej występujących wirusów, co nie wyklucza udziału patogenów bakteryjnych.

Mechanizmy związane z podwyższoną patogennością wschodnioeuropejskich szczepów PRRSV nie są do końca poznane. PRRSV posiada genom w postaci jednocieniowego RNA, i podobnie jak inne wirusy z tej grupy, charakteryzuje się niezwykle wysoką zmiennością genetyczną i antygenową. Może ona wpływać na czułość i swoistość metod diagnostycznych oraz powodować powstawanie

wariantów o zmienionych właściwościach biologicznych, w tym wyższej patogenności. Sekwencjonowanie całego genomu szczepu Lena potwierdziło, że jest on w znacznym stopniu odmienny od klasycznych szczepów europejskich. Co ciekawe, stwierdzono występowanie delecji w regionie nsp2, nietypowych dla szczepów z genotypu 1, występujących natomiast w przypadku wysokopatogennego szczepu HP-PRRSV z Chin (7). Nieco krótszą delecję w tym samym regionie wykryto również w przypadku szczepu WestSib13 (6).

Badania Weesendorp i wsp. (8) rzucają nowe światło na przyczyny wyższej patogenności szczepów wschodnioeuropejskich. W porównaniu z dwoma szczepami z podtypu 1, szczep Lena indukował apoptozę (proces zaprogramowanej śmierci komórki w odpowiedzi na określony sygnał) większej liczby komórek, a także ograniczał ekspresję białek SLA-I i SLA-II tworzących kompleksy umożliwiające rozpoznawanie przez układ immunologiczny obcych białek. Szczep Lena zakażał także większą liczbę komórek w porównaniu do pozostałych użytych w doświadczeniu. To interesujące zjawisko wyjaśniają badania prowadzone w eksplantatach (fragmentach tkanki hodowanych *in vitro* w warunkach laboratoryjnych) nabłonka dróg oddechowych (9). Wykazały one, że szczep Lena namnaża się szybciej i intensywniej w porównaniu do klasycznych szczepów europejskich. Ponad 100 razy silniejszą replikację tego szczepu wyjaśnia fakt, że zakażał on szerszy wachlarz subpopulacji komórek w porównaniu do pozostałych szczepów, dzięki wykorzystywaniu alternatywnych, dotychczas niezidentyfikowanych, receptorów umożliwiających wnikanie wirusa do komórek. Zjawisko to promuje wyższy poziom siewstwa wirusa do środowiska, i w konsekwencji szybsze rozprzestrzenianie się zakażenia.

Inne badania wykazały zwiększoną produkcję cytokiny prozapalnej IL-1 α w zakażeniu szczepem Lena (10) i SU1-bel (11). Autorzy wskazują, że szczepy wschodnioeuropejskie indukują silniejszą odpowiedź zapalną w pierwszych dniach po infekcji, co prowadzi do ostrzejszych objawów klinicznych i zmian zapalnych w płucach. Do podobnych wniosków doszli Morgan i wsp. (4), którzy zaobserwowali silniejszą odpowiedź immunologiczną w przypadku szczepu SU1-bel, pomimo niższego poziomu wiremii w porównaniu z innymi szczepami z podtypu 1 zastosowanymi w tym samym doświadczeniu.

Rozpoznawanie zakażeń wschodnioeuropejskimi szczepami PRRSV

Metody standardowo stosowane w diagnostyce zakażeń PRRSV to test ELISA, wykrywający specyficzne przeciwciała,

i kombinacja odwrotnej transkrypcji i reakcji łańcuchowej polimerazy RT-PCR, w której wykrywane jest wirusowe RNA. W reakcji RT-PCR najczęściej wykrywany jest fragment ORF7 kodujący białko nukleokapsydu, uważany za stosunkowo konserwatywny fragment genomu. To samo białko nukleokapsydu stosowane jest jako antygen wiążący przeciwciała w testach ELISA. Standardowo w przypadku genotypu 1 i 2 wielkość tego białka wynosi odpowiednio 128 i 123 aminokwasy. Tymczasem badania szczepów wschodnioeuropejskich wykazały znaczny polimorfizm rozmiaru ORF7 w przypadku podtypów 2-4 PRRSV. Przewidywane na podstawie sekwencji nukleotydowej rozmiary białka nukleokapsydu wynoszą dla szczepów z różnych podtypów od 124 do 132 aminokwasów. Heterogenność ORF7 jest spowodowana występowaniem insercji lub delecji w sekwencji kodującej białko, a także skróceniem/wydłużeniem C-terminalnego regionu sekwencji. Badania *in vitro* przeprowadzone w PIWet-PIB i innych ośrodkach naukowych potwierdzają występowanie istotnych różnic antygenowych – profil reaktywności z przeciwciałami monoklonalnymi jest odmienny dla szczepów z podtypów 2 i 3 w porównaniu do klasycznych szczepów z Europy Środkowej i Zachodniej.

Wskazuje to na odmienną konformację białek eksponowanych na powierzchni nukleokapsydu wirusa, rozpoznawanych przez układ immunologiczny. Różnice te mogą wpływać na czułość serologicznych metod diagnostycznych, a także na poziom odporności krzyżowej indukowanej przez szczepionki i w konsekwencji ich skuteczność.

W celu oceny wpływu zmienności genetycznej i antygenowej na metody diagnostyczne w PIWet-PIB przeprowadzono badania porównawcze obejmujące szereg komercyjnych testów ELISA i RT-PCR. Porównanie komercyjnych zestawów ELISA do wykrywania przeciwciał specyficznych dla PRRSV w surowicy wykazało, że wszystkie metody charakteryzowały się zadowalającą czułością przy założeniu ich stosowania na poziomie populacji, także w przypadku próbek pochodzących od zwierząt zakażonych szczepami wschodnioeuropejskimi. Z kolei w przypadku porównania siedmiu komercyjnych testów real-time RT-PCR, stwierdzono znaczne różnice w zakresie czułości diagnostycznej, szczególnie w przypadku szczepów wschodnioeuropejskich z podtypów 2-4. Porównanie przeprowadzono w oparciu o 40 próbek reprezentujących 20 różnych szczepów PRRSV (izolaty, surowice i tkanki od świń naturalnie i eksperymentalnie zakażonych PRRSV). Szesnaście szczepów należało do genotypu 1 i reprezentowało podtyp 1 (4 szczepy), podtyp 2 (3 szczepy), podtyp 3 (5 szczepów) oraz podtyp 4 (2 szczepy). Dwa szczepy wykazywały cechy rekombinacji i grupowały

się w obrębie podtypu 1 lub 2 zależnie od analizowanego regionu genomu (ORF7 lub ORF5). Panel próbek obejmował także cztery szczepy z genotypu 2, w tym wysoce patogenny szczep z Wietnamu (HP-PRRSV). Wszystkie próbki testowano w dwóch równoległych powtórzeniach zgodnie z instrukcją producenta. Odszetek próbek zaklasyfikowanych jako dodatnie różnił się w zależności od zastosowanego testu i wynosił od 50 do 95%. Jedynie dwa zestawy wykryły wszystkie szczepy PRRSV. Stosując pozostałe zestawy, uzyskano wyniki fałszywie ujemne w przypadku od jednego do siedmiu szczepów, głównie z podtypów 2-4. Jeden z zestawów nie wykrył żadnego ze szczepów z podtypu 3, jednak pozostałe zestawy wykrywały przynajmniej po jednym szczepie z każdego podtypu. Ponadto jeden z zestawów nie wykrył terenowego szczepu z genotypu 2 izolowanego na terenie Polski, natomiast wszystkie zestawy wykrywały próbki azjatyckiego szczepu HP-PRRSV z zadowalającą czułością.

Uzyskane w opisanych powyżej badaniach porównawczych wyniki wykazały, że zmienność genetyczna PRRSV może mieć znaczący wpływ na wyniki badań diagnostycznych wykonywanych techniką RT-PCR. Niektóre z zestawów komercyjnych nie były w stanie wykryć nawet do siedmiu, głównie wschodnioeuropejskich, szczepów PRRSV. Metody RT-PCR opierają się na wykorzystaniu krótkich fragmentów nukleotydowych (starterów i sond), które przyłączają się do określonych miejsc w genomie wirusa i umożliwiają ich wielokrotne kopiowanie i detekcję po uzyskaniu odpowiedniej ilości produktu. Jednak w przypadku, kiedy w miejscu ich przyłączenia występują różnice w sekwencji nukleotydów, np. powstałe w wyniku mutacji, nie dochodzi do przyłączenia i uzyskuje się wynik fałszywie ujemny. W związku z tym niezwykle istotne jest stałe monitorowanie zmienności genetycznej i okresowa rewalidacja stosowanych metod oraz aktualizacja sekwencji starterów i sond stosowanych w testach RT-PCR. Problemem jest tu brak dostępności szczepów i sekwencji reprezentujących pełny zakres zmienności genetycznej PRRSV, szczególnie z krajów Europy Wschodniej. Metody diagnostyczne opracowywane i oceniane są często jedynie w oparciu o dominujące lokalnie szczepy, i w związku z tym ich czułość względem innych, odmiennych szczepów nie jest w pełni znana.

Skuteczność szczepień przeciwko wschodnioeuropejskim szczepom PRRSV

W związku ze znaczną zmiennością genetyczną i antygenową wschodnioeuropejskich podtypów PRRSV powstaje pytanie o skuteczność szczepionek względem zaliczanych do nich szczepów. Czy szczepionki oparte

na klasycznych szczepach z podtypu 1 będą zapewniały odpowiedni poziom odporności krzyżowej i zabezpieczyły przed objawami klinicznymi? Trus i wsp. (12) przeprowadzili dwa doświadczenia w celu oceny skuteczności komercyjnej atenuowanej szczepionki przeciwko szczepowi Lena z podtypu 3 u cztero- i siedmiotygodniowych świń. Stopień podobieństwa nukleotydowego szczepu Lena i szczepionki wynosił 83,3%. W pierwszym doświadczeniu świnię zakażano zjadliwym szczepem po ośmiu, w drugim – po sześciu tygodniach po szczepieniu. W grupie kontrolnej w pierwszym doświadczeniu podwyższona temperatura ciała występowała średnio przez 5,1 dnia, natomiast w drugim – 7,7 dnia. U świń immunizowanych czas ten został skrócony odpowiednio o 1,8 i 3,5 dnia. Szczepienia ograniczyły także czas trwania siewstwa z 5,8 dnia do 3,6 dnia w pierwszym doświadczeniu i z 8,3 dnia do 3 dni. Ograniczeniu uległ również czas trwania wirerii, w przypadku pierwszego doświadczenia z 11,8 do 7,4 dnia, natomiast w drugim doświadczeniu z 12,3 do 4,8 dnia. W grupach szczepionych stwierdzono statystycznie istotne obniżenie miana wirusa w wymazach z nosa i surowicy od 5 dnia po zakażeniu. Immunizacja przyspieszyła także produkcję przeciwciał neutralizujących, istotnych dla inaktywacji wirusa. W grupach szczepionych przeciwciała neutralizujące wykryto 7 dni po zakażeniu, natomiast w grupach kontrolnych około 28 dnia po zakażeniu. Wyniki powyższych doświadczeń wskazują, że immunizacja za pomocą szczepionki zawierającej wirus z podtypu 1 zapewniła częściową odporność na zakażenie szczepem z podtypu 3. Podobne wyniki prezentowane także na kongresie ESPHM, uzyskano z zastosowaniem innej komercyjnej szczepionki dla genotypu 1. Autorzy wykazali, że immunizacja zapewnia częściową odporność krzyżową w zakresie objawów klinicznych, ogranicza siewstwo i nieznacznie skraca czas trwania wirerii (13).

W kolejnym eksperymencie Trus i wsp. (14) analizowali poziom odporności krzyżowej indukowanej przez szczepy terenowe z podtypu 1. Celem tych badań było dostarczenie informacji, czy stosunkowo powszechne rozprzestrzenienie zakażeń lokalnymi szczepami PRRSV w krajach europejskich może zapewnić odporność w przypadku wprowadzenia szczepów wschodnioeuropejskich do populacji świń. Wcześniejsze zakażenie szczepem z 2007 r. i dwoma szczepami z 2013 r. spowodowało skrócenie czasu występowania gorączki średnio z 7,6 do 4-4,6 dnia. Stwierdzono także redukcję siewstwa w wymazach z nosa oraz wirerii. Interesujące, że z trzech badanych szczepów najlepszą krzyżową odporność zapewnił najstarszy szczep izolowany w 2007 r. Z kolei badania odporności w odpowiedzi na wcześniejszą homologiczną immunizację tym

samym szczepem, który następnie zastosowano do zakażenia (Lena), wykazały, podobnie jak w przypadku szczepu Lelystad z podtypu 1, całkowitą odporność na zakażenie (15).

Interesujące wyniki badań przedstawili Renson i wsp. (16), którzy wykazali lepszą redukcję wirerii szczepu Lena po zastosowaniu preimmunizacji szczepem terenowym oraz szczepionki opartej na szczepie z genotypu 2 w porównaniu do szczepionki z genotypu 1. Wskazuje to, że poziom odporności krzyżowej nie jest zależny jedynie od podobieństwa genetycznego między szczepami zastosowanymi w doświadczeniu.

Przeprowadzona w ostatnim czasie analiza filogenetyczna szczepów PRRS z obszaru Polski i innych krajów Europy Środkowej nie wykazała obecności zakażeń szczepami PRRSV z podtypów wschodnioeuropejskich. Nie ma także dowodów na występowanie tych szczepów w innych krajach poza obszarem byłego ZSRR, nie można jednak wykluczyć potencjalnej introdukcji tych szczepów ze względu na ich powszechne występowanie w krajach graniczących z UE. Występowanie PRRSV potwierdzono u dzików na Litwie, co, jak wskazują dotychczasowe doświadczenia z afrykańskim pomorem świń, stwarza dodatkowe ryzyko, którego nie można ignorować (17). W świetle badań wskazujących na wyższy stopień patogenności tych szczepów, taki scenariusz mógłby wiązać się z dotkliwymi stratami ekonomicznymi. Tymczasem przedstawione powyżej badania wskazują, że czułość wielu metod diagnostycznych RT-PCR w stosunku do szczepów wschodnioeuropejskich nie gwarantuje ich wczesnego wykrycia i identyfikacji. Jest to związane z faktem, że większość metod diagnostycznych stosowanych w laboratoriach europejskich jest opracowywana i walidowana w oparciu o lokalnie

krążące szczepy PRRSV. Konieczne jest stałe monitorowanie szczepów PRRSV krążących w populacji świń, szczególnie w obszarach i krajach graniczących z obszarami występowania podtypów 2-4 PRRSV.

Źródło finansowania

Sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015

Piśmiennictwo

1. Stadejek T., Stankevicius A., Murtaugh M.P., Oleksiewicz M.B.: Molecular evolution of PRRSV in Europe: Current state of play. *Vet. Microbiol.* 2013, **165**, 21–28.
2. Karniyuch U.U., Geldhof M., Vanhee M., Van Doorslaere J., Saveleva T.A., Nauwynck H.J.: Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *BMC Vet. Res.* 2010, **6**, 30.
3. Weesendorp E., Morgan S., Stockhofe-Zurwieden N., Popma-De Graaf D.J., Graham S.P., Rebel J.M.J.: Comparative analysis of immune responses following experimental infection of pigs with European porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of differing virulence. *Vet. Microbiol.* 2013, **163**, 1–12.
4. Morgan S.B., Graham S.P., Salguero F.J., Sanchez Cordo P.J., Mokhtar H., Rebel J.M.J., Weesendorp E., Bodman-Smith K.B., Steinbach E., Frossard J.P.: Increased pathogenicity of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus is associated with enhanced adaptive responses and viral clearance. *Vet. Microbiol.* 2013, **163**, 13–22.
5. Stadejek T., Larsen L.E., Podgórska K., Botner A., Botti S., Dolka I., Fabisiak M., Heegaard P.M.H., Hjulsager C.K., Huć T., Kvisgaard L.K., Sapieryziński R., Nielsen J.: Pathogenicity of three genetically diverse strains of PRRSV Type 1 in specific pathogen free pigs. *Vet. Microbiol.* 2017, **209**, 13–19.
6. Yuzhakov A.G., Raev S.A., Skrylev A.N., Mishin A.M., Grebennikova T.V., Verkhovskiy O.A., Zaberezhnyy A.D., Trus I., Nauwynck H.J., Aliper T.I.: Genetic and pathogenic characterization of a Russian subtype 2 PRRSV-1 isolate. *Vet. Microbiol.* 2017, **211**, 22–28.
7. Van Doorslaere J., Brar M.S., Shi M., Karniyuch U., Leung F.C., Nauwynck H.J.: Complete genome characterization of a East European Type 1 subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Genes* 2012, **44**, 51–54.
8. Weesendorp E., Stockhofe-Zurwieden N., Popma-De Graaf D.J., Fijten H., Rebel J.M.J.: Phenotypic modulation and cytokine profiles of antigen presenting cells by European subtype 1 and 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains in vitro and in vivo. *Vet. Microbiol.* 2013, **167**, 638–650.
9. Frydas I.S., Verbeeck M., Cao J., Nauwynck H.J.: Replication characteristics of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) European subtype 1 (Lelystad) and subtype 3 (Lena) strains in nasal mucosa and cells of the monocytic lineage: indications for the use of new receptors of PRRSV (Lena). *Vet. Res.* 2013, **44**, 73.
10. Weesendorp E., Rebel J.M.J., Popma-De Graaf D.J., Fijten H.P.D., Stockhofe-Zurwieden N.: Lung pathogenicity of European genotype 3 strain porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) differs from that of subtype 1 strains. *Vet. Microbiol.* 2014, **174**, 127–138.
11. Amarilla S.P., Gómez-Laguna J., Carrasco L., Rodríguez-Gómez I.M., Caridad y Ocerinc J.M., Morgan S.B., Graham S.P., Frossard J.P., Drew T.W., Salguero F.J.: A comparative study of the local cytokine response in the lungs of pigs experimentally infected with different PRRSV-1 strains: Upregulation of IL-1 α in highly pathogenic strain induced lesions. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2015, **164**, 137–147.
12. Trus I., Bonckaert C., van der Meulen K., Nauwynck H.J.: Efficacy of an attenuated European subtype 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in pigs upon challenge with the East European subtype 3 PRRSV strain Lena. *Vaccine* 2014, **32**, 2995–3003.
13. Bonckaert C., van der Meulen K., Rodríguez-Ballarà I., Pedrazuela Sanz R., Fenech Martínez M., Nauwynck H.: Modified-live PRRSV subtype 1 vaccine UNISTRIN[®] PRRS provides a partial clinical and virological protection upon challenge with East European subtype 3 PRRSV strain Lena. *Porcine Health Manage.* 2016, **2**, 12.
14. Trus I., Frydas I.S., Reddy V.R.A.P., Bonckaert C., Li Y., Kvisgaard L.K., Larsen L.E., Nauwynck H.J.: Immunity raised by recent European subtype 1 PRRSV strains allows better replication of East European subtype 3 PRRSV strain Lena than that raised by an older strain. *Vet. Res.* 2016, **47**, 15.
15. Weesendorp E., Stockhofe-Zurwieden N., Nauwynck H.J., Popma-De Graaf D.J., Rebel J.M.J.: Characterization of immune responses following homologous reinfection of pigs with European subtype 1 and 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains that differ in virulence. *Vet. Microbiol.* 2016, **182**, 64–74.
16. Renson P., Fablet C., Le Dimma M., Mahé S., Touzainc F., Blanchard Y., Pabouef F., Rose N., Bourrya O.: Preparation for emergence of an Eastern European porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) strain in Western Europe: Immunization with modified live virus vaccines or a field strain confers partial protection. *Vet. Microbiol.* 2017, **204**, 133–140.
17. Stankevicius A., Buitkviene J., Sutkiene V., Spancerniene U., Pampariene I., Pautienius A., Oberauskas V., Zilinskas H., Zymaniene J.: Detection and molecular characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Lithuanian wild boar populations. *Acta Vet. Scand.* 2016, **58**, 51.