

8 Novembre 2014
“AGGIORNAMENTI DI PATOLOGIA SUINA”
IZSLER, Modena

ENTERITE DA CORONAVIRUS DELLA PED NEL SUINO: UNA “VECCHIA” MALATTIA TORNATA D’ATTUALITÀ

Antonio LAVAZZA

con il contributo di:

G. Loris ALBORALI, Beatrice BONIOTTI

Reparto Virologia IZSLER - Brescia - Italy



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
“BRUNO UBERTINI”
ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO

DEFINIZIONE

La Diarrea Epidemica del Suino
(*PED = Porcine epidemic diarrhoea*)
occasionalmente definita “sindrome
diarroica epidemica del suino”, è una
malattia dei suini non-zoonosica, indotta
da un coronavirus e caratterizzata da
diarrea acquosa e perdita di peso

PRINCIPALI CARATTERISTICHE/1

- ✘ Identificata e segnalata per la prima volta nel 1971, è stata recentemente riscontrata in popolazioni “scoperte” di suini in Paesi dove la malattia noi è mai stata precedentemente segnalata
- ✘ Colpisce suini di tutte le età, ma con maggior gravità i suinetti neonati, nei quali la morbilità e mortalità raggiunge il 100%. La mortalità decresce con il progredire dell'età degli animali infetti

PRINCIPALI CARATTERISTICHE/2

- ✘ E' una malattia virale contagiosa trasmissibile principalmente per via oro-fecale
- ✘ La malattia è clinicamente simile ad altre forme di gastroenterite del suino e comprende: anoressia, vomito, diarrea e disidratazione
- ✘ La prevenzione ed il controllo sono basati su rigide misure di biosicurezza e sulla identificazione precoce
- ✘ Non esiste alcun trattamento specifico per questa malattia

NOTIFICA OIE

- ✘ La PED non è inclusa nella lista delle malattie notificabile dell'OIE
- ✘ Tuttavia, in considerazione dell'obbligo per i Paesi membri (Articolo 1.1.4. punto 1 dell'OIE *Terrestrial Animal Health Code*) relativo alle malattie emergenti, si è registrato negli ultimi due anni un numero crescente di segnalazioni di malattia nel sistema WAHIS dell'OIE

EZIOLOGIA

Virione: sferico, dimensioni tra 100 e 120 nm

Acido nucleico: ssRNA - Polarità positiva (27-32 Kb)

Ospiti: Vertebrati (mammiferi e avicoli)

Struttura tassonomica della famiglia

Ordine	Nidovirales
Famiglia	Coronaviridae
Sub-famiglia	Coronavirinae
Genus	Alfacoronavirus
	Betacoronavirus
	Gammacoronavirus
	Deltacoronavirus
Sub-famiglia	Torovirinae
Genus	Torovirus

TASSONOMIA

Genus: Alphacoronavirus; type species: Alphacoronavirus 1

Species: Alpaca coronavirus, Alphacoronavirus 1, Human coronavirus 229E, Human Coronavirus NL63, Miniopterus Bat coronavirus 1, Miniopterus Bat coronavirus HKU8, **Porcine epidemic diarrhea virus (PEDv)**, Rhinolophus Bat coronavirus HKU2, Scotophilus Bat coronavirus 512, *Feline coronavirus*, *Feline infectious peritonitis virus*, *Canine coronavirus*, **Pig Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEv)**

Genus Betacoronavirus; type species: Murine coronavirus

Species: Betacoronavirus 1, Human coronavirus HKU1, Murine coronavirus, Pipistrellus Bat coronavirus HKU5, Rousettus Bat coronavirus HKU9, SARS-CoV, Tylonycteris Bat coronavirus HKU4, MERS-CoV, Human coronavirus OC43, Hedgehog coronavirus (EriCoV), *Bovine coronavirus*, **Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (HEV)**, *Rat coronavirus (RCV)* / *Sialodacryoadenitis virus (SDAV)*, *Canine respiratory coronavirus (CRCV)*, *Equine coronavirus (ECV)*

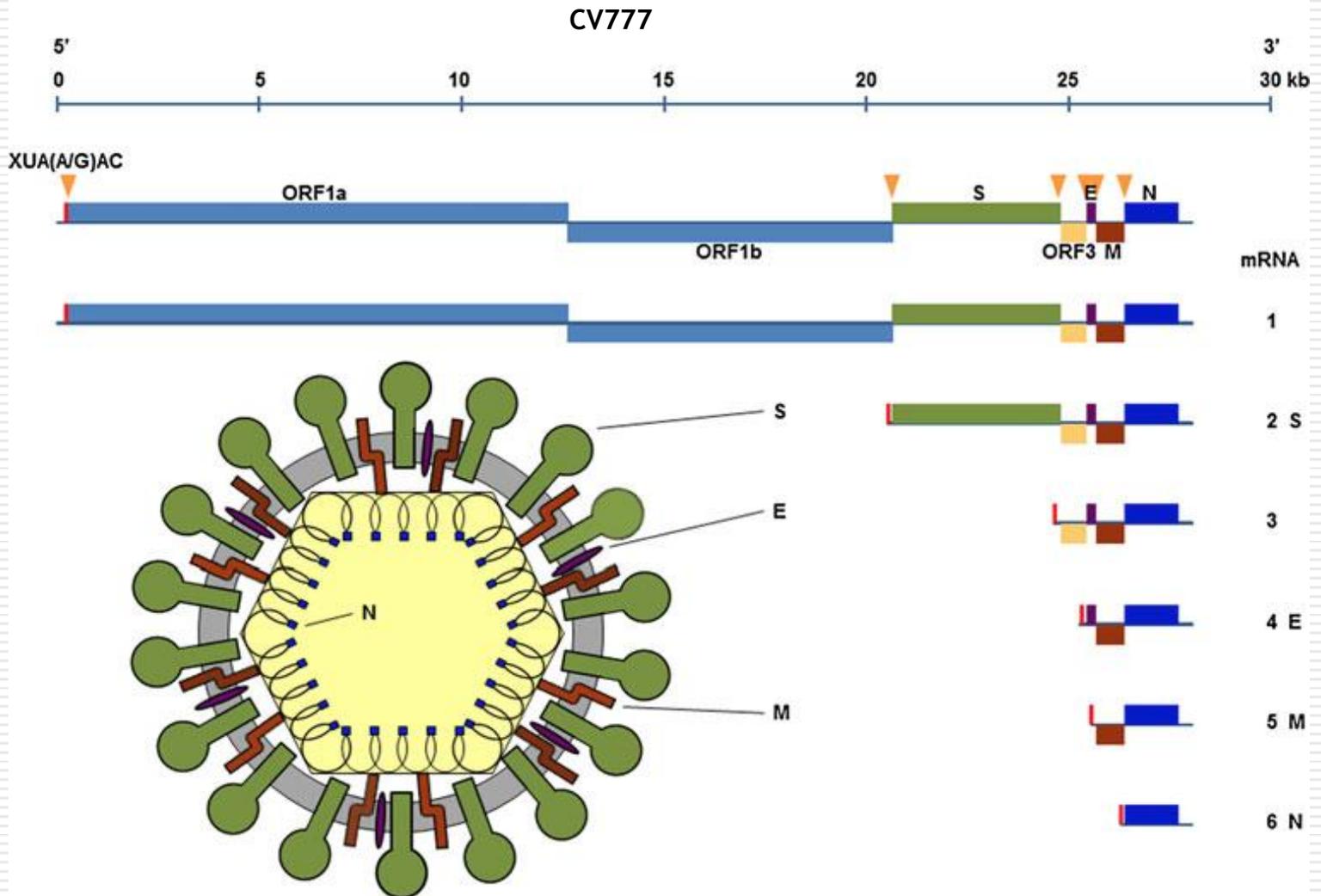
Genus Gammacoronavirus; type species: Avian coronavirus

Species: Avian coronavirus, Beluga whale coronavirus SW1, Duck coronavirus, Infectious bronchitis virus

Genus Deltacoronavirus; type species: Bulbul coronavirus HKU11

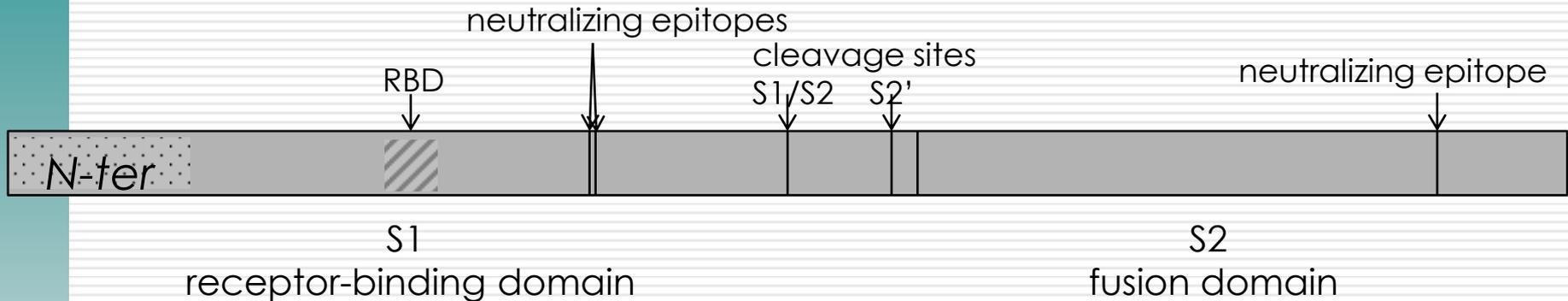
Species: Bulbul coronavirus HKU11, Munia coronavirus HKU13, Thrush coronavirus HKU12, **Porcine deltacoronavirus (PDCoV)**

GENOMA PEDV



Song and Park. Virus Genes (2012) 44: 167-175

GENE SPIKE (S)



- determinano il legame con i recettori cellulari
- inducono la fusione dell'involucro virale con la membrana cellulare
- possono essere causa di fusione cellulare
- inducono anticorpi neutralizzanti

**PEDV non presenta cross-immunità
con altri coronavirus suini (es. TGEV)**

RESISTENZA PEDV AD AGENTI CHIMICO-FISICI

Sensibilità

- ✗ Formalina 1%
- ✗ Carbonato di sodio anidro 4% (soda), solventi dei lipidi, iodofori in acido fosforico 1%
- ✗ Idrossido di sodio 2% (soda caustica)

Resistenza

- ✗ PEDV sopravvive per tempi variabili fuori dall'ospite in funzione delle condizioni di temperatura e umidità relativa: almeno 28gg nel fango a 4° C, 7gg in alimento secco contaminato da feci a 25° C, fino a 14gg a 25° C in alimento umido e almeno 28gg in miscele umide a 25° C
- ✗ PEDV perde la propria infettività a T° >60° C
- ✗ PEDV è stabile a pH 6.5-7.5 a 37° C e pH 5-9 a 4° C

EPIDEMIOLOGIA - 1

Spettro d'ospite

- ✘ Il **suino** domestico è l'unica specie riconosciuta di PEDv. Nulla si sa sul cinghiale
- ✘ La PED non è una zoonosi
- ✘ Indagini in corso su roditori e uccelli (reservoirs?)

Trasmissione

- ✘ **Diretta:** ingestione di alimenti contaminati con feci infette
- ✘ **Indiretta:** veicoli (soprattutto di trasporto dei maiali), persone, attrezzature, strumenti, contaminati da feci. Possibile ruolo di prodotti a base di sangue suino infetto (*spray-dried plasma*), usati nelle razioni alimentari dei suinetti, ma solo se non sono applicate buone pratiche di produzione e seguiti standards di biosicurezza

Table 9: Reported info on occurrence of PEDV in species other than pigs since 2004 obtained by an extensive search of the scientific literature and relevant websites

Host	Matrix	Detection method	Number positive/tested samples	Reference
Samples of geese and buzzards	Mouth	RT-PCR	1/2	http://www.cvm.umn.edu/sdec/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@sdec/documents/content/cvm_content_475778.pdf
	Lung	RT-PCR	0/3	
	Stomach	RT-PCR	2/3	
	Intestine	RT-PCR	1/4	
	Vent/cloaca	RT-PCR	2/3	
	Faeces	RT-PCR	0/2	
	Feet	RT-PCR	1/6	
	Area landed	RT-PCR	0/1	
Starling	Feet, cloaca and crop	RT-PCR	0/14	http://www.pork.org/filelibrary/Thomas%2014-171%20main%206-16-14.pdf
	ileum	Immuno-histochemistry	0/9	
Mice (inoculated with PEDV)	Blood	RT-PCR	0/10	Kamau et al., 2010
	Intestine	RT-PCR	0/10	
	Lung	RT-PCR	0/10	
	Spleen	RT-PCR	0/10	
	Kidney	RT-PCR	0/10	
	Faeces	RT-PCR	0/10	
	Serum	ELISA	0/36	
Sparrows (inoculated with PEDV)	Small intestine	RT-PCR	0/16	Lee et al., 2014
Mice (inoculated with PEDV)	Small intestine	RT-PCR	0/16	
Rodents	Brain, tonsils, lungs, heart, spleen, liver, kidneys, mesenteric lymph nodes, small and large intestines	RT-PCR	0/102	Truong et al., 2013
Stray cats	Brain, lungs, heart, spleen, liver, kidneys, mesenteric lymph nodes, small and large intestines	RT-PCR	0/24	
	Tonsils	RT-PCR	1/24	

EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2014. Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging pig deltacoronavirus. EFSA Journal 2014;12(10):3877, 68 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3877

EPIDEMIOLOGIA - 2

Viremia, incubazione, infezione e escrezione

- ✘ L'incubazione è di 1-4gg
- ✘ L'infezione/escrezione virale può variare da 6 a 35gg dalla comparsa di sintomi clinici

Matrici infette

- ✘ La principale fonte d'infezione sono le feci (fino a 10^{12} /mg di feci). RNA virale identificato con PCR a titoli molto inferiori in sangue e seme (ruolo non definito nella trasmissione)

Patogenesi

- ✘ Replicazione nelle cellule epiteliali del piccolo intestino (digiuno e ileo) meno nel colon. Accorciamento dei villi, mancato assorbimento, diarrea acquosa

PEDV in differenti matrici animali

Matrix	PEDV detected	RNA detected	Infective detected	PEDV Survival of the virus in the matrix	Role reported in transmission
Live pigs	Yes		Yes	Faecal shedding of PEDV initiates 24-48 hours post-infection and lasts, in general, about one week, although shedding for a period of one to two months has been reported	Yes
Faeces	Yes		Yes	PEDV remains infectious when faeces are heated to 62.7°C (145°F) for 10 minutes or when faeces are incubated between 40 and 60°C with a relative humidity ranging from 30 to 70% for up to seven days; low infective dose but exact viral titer is not known	Yes
Slurry	No data available		No data available ^(b)	PEDV remains infectious when spiked in slurry and stored for 14 days at room temperature and at least for 28 days when stored at 4°C and -20°C	No data available ^(b)
Semen	Yes		No data available ^(b)	No data available ^(b)	No data available ^(b)
Embryos	No data available ^(b)		No data available ^(b)	No data available ^(b)	No data available ^(b)
Whole blood	Yes		No data available ^(b)	No data available ^(b)	No data available ^(b)
Spray-dried porcine blood and plasma	Yes		Yes	It is reported that spray-drying of porcine plasma can inactivate PEDV. Infectious PEDV has been detected in SDPP in one study but the origin of the infectious PEDV in SDPP is not clear (cross-contamination or inefficient inactivation)	No experimental proof that pigs have been infected via feed containing PEDV-contaminated SDPP, but very low concentrations of infectious PEDV in feed containing PEDV PCR-positive SDPP cannot be excluded at the moment
Other porcine-derived feed components ^(a)	No data available ^(b)		No data available ^(b)	No data available ^(b)	No data available ^(b)
Air	Yes		Yes (within a room)/no (long distance)	No data available ^(b)	Yes (within a room)/no (long distance)

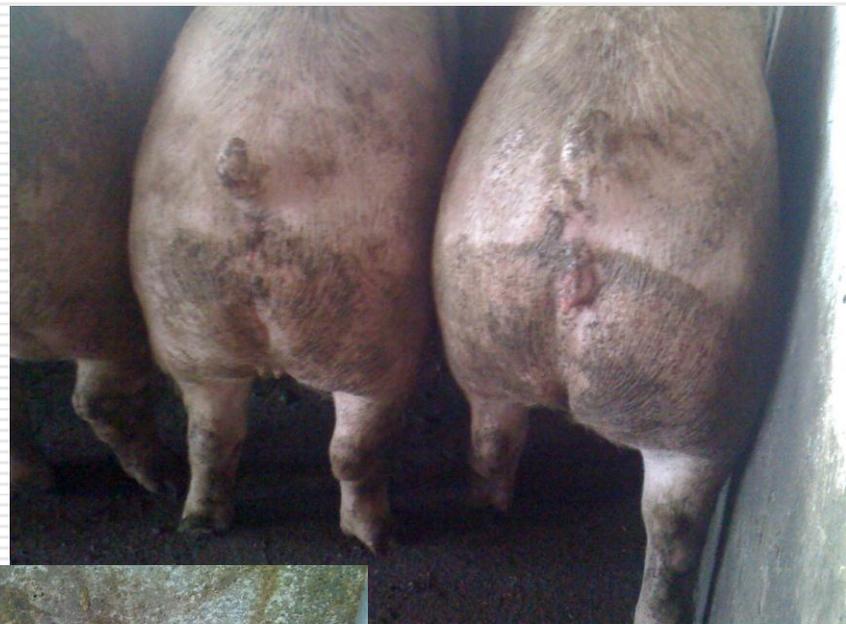
^(a) Including red blood cells, hydrolyzed proteins, fat, gelatin, collagen and untreated pig products (swill)

^(b) No studies found

EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2014. Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging pig deltacoronavirus. EFSA Journal 2014;12(10):3877, 68 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3877

SINTOMATOLOGIA CLINICA

- ✘ Quadri clinici variabili, non patognomonic, indistinguibili da sindromi diarroiche di altra eziologia e natura
- ✘ Sintomatologia variabile in funzione di: età, pregressa infezione, stato immunitario, infezioni secondarie
- ✘ Possono essere riscontrati:
 - Morbilità fino a 100%
 - Mortalità variabile: fino al 100% nei suinetti lattanti, meno del 10% dopo le due settimane di vita, circa 5% negli svezzati ed ancora meno nei grassi e riproduttori
 - Diarrea e vomito
 - Deidratazione e acidosi metabolica
- Durata media di un episodio 4-8 sett.



LESIONI



- ✘ Quadri *post mortem* molto simili a quelli osservati in corso di focolai di TGE, tra cui:
 - assottigliamento della parete del piccolo intestino
 - presenza di latte indigerito nello stomaco
 - contenuto intestinale acquoso
- ✘ Necessaria quindi la diagnosi di laboratorio per la conferma eziologica finale e definitiva

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

PED è clinicamente indistinguibile da altre malattie gastroenteriche del suino di origine:

- ✘ virale (TGEV, rotavirus)
- ✘ batterica (*Clostridium spp.*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Brachyspira spp.*, *Lawsonia intracellularis*, etc.)
- ✘ parassitaria (*Isospora suis*, *Cryptosporidium spp.*, *nematodi*, etc.)

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Campioni

- × Feci fresche
- × Fluidi orali
- × Piccolo intestino
- × Siero (per anticorpi)

Metodi

Ricerca dell'antigene

- ME- IEM
- Ag-ELISA
- RT-PCR
- Immunoistochimica (IHC),
- Isolamento virale (difficile)

Test sierologici

- Ab-ELISA
- Immunofluorescenza
- IHC
- Sieroneutralizzazione

Test diagnostici all'IZSLER

- ✘ Sviluppate due test immunoenzimatici, basati sull'uso di anticorpi monoclonali (MAbs) prodotti verso il ceppo di referenza europeo CV777
- ✘ Messa a punto di test per la identificazione:
 - ANTIGENE (*sandwich-AgELISA e Immuno-Elettron-Microscopia-IEM*)
 - ANTICORPI (*competitive AbELISA e immuno-perossidasi monolayer assay-IPMA*)



Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and RT-PCR for the detection of porcine epidemic diarrhoea virus

Enrica Sozzi*, Andrea Luppi, Davide Lelli, Ana Moreno Martin, Elena Canelli, Emiliana Brocchi, Antonio Lavazza, Paolo Cordioli

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Uberтини", via Bianchi 7/9, 25124 Brescia, Italy

Identificazioni virologiche confermate anche con RT-PCRs (pan coronavirus e PEDV specifiche)

Viruses 2013, 5, 2679-2689; doi:10.3390/v5112679

OPEN ACCESS

viruses

ISSN 1999-4915

www.mdpi.com/journal/viruses

Brief Report

Detection of Coronaviruses in Bats of Various Species in Italy

Davide Lelli ^{1,†,*}, Alice Papetti ^{1,†}, Cristiano Sabelli ², Enrica Rosti ³, Ana Moreno ¹ and Maria B. Boniotti ¹

Type	Detection European PEDV (CV777)	Detection American PEDV	Reference (used by country)
Pan-coronavirus	Yes	Yes	Escutenaire et al., 2007 (HU); Moës et al., 2005 (ES); <u>Lelli et al. 2013 (IT)</u>
M PEDV/TGEV specific	Yes	Yes	Unpublished (IT)
PEDV/TGEV specific	Yes	?	Chen et al., 2014 (NL); Ben Salem et al., 2010 (ES); unpublished (IT)
S1 PEDV specific	Yes	Yes	Kim et al., 2001 (IT); Song et al., 2006 (AT)



PREVENZIONE E CONTROLLO - 1

- ✘ Nessun trattamento specifico, solo sintomatico (diarrea e infezioni batteriche secondarie)
- ✘ Guarigione spontanea nei grassi in 7-10gg in assenza di infezioni secondarie
- ✘ Possibile reinfezione quando l'immunità decresce
- ✘ Anticorpi materni nel colostro di scrofe immuni possono proteggere dall'infezionei suinetti neonati
- ✘ Vaccini PED disponibili e usati in alcuni Paesi (Est Asiatico e USA, no Europa) sia inattivati che vivi attenuati che biotecnologici (alphavirus replicon-based vaccine)
- ✘ Vaccinazione delle scrofe 4 e 2 sett. prima del parto
- ✘ Efficacia variabile, spesso molto differenti da ceppi wild

PREVENZIONE E CONTROLLO - 2

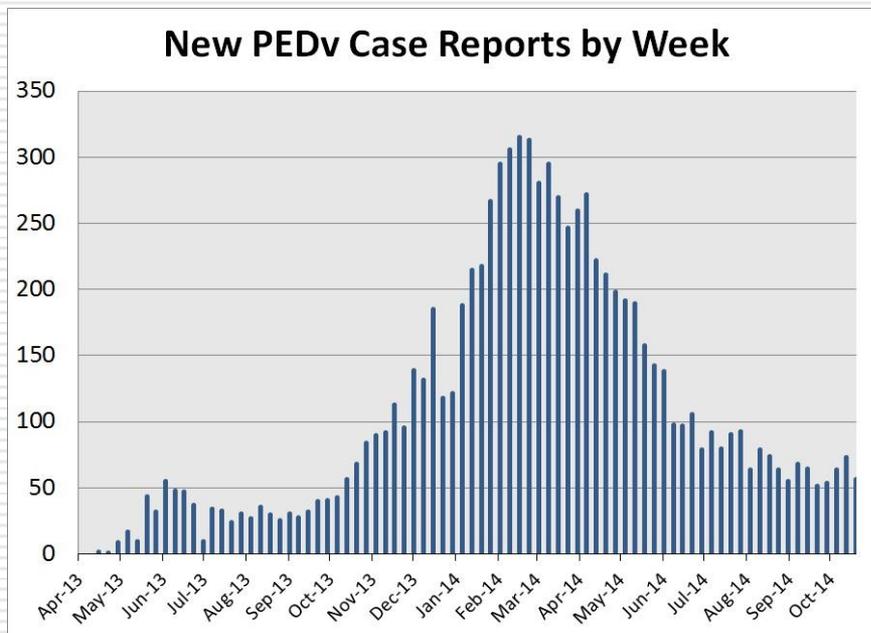
- ✘ L'applicazione di rigide **misure di biosicurezza** è la strategia più efficace per prevenire l'introduzione e diffusione del virus
- ✘ In particolare:
 - introduzione di soggetti a stato sanitario conosciuto
 - controllo delle movimentazione/trasporto di animali
 - controllo dei visitatori e materiali introdotti
 - disinfezione di veicoli dopo ogni carico e delle attrezzature
 - smaltimento controllato di carcasse e liquami
 - **diagnosi di sospetto e conferma rapide**
- ✘ L'implementazione e mantenimento di programmi di elevata biosicurezza sono risultati decisivi nel controllare la malattia nei Paesi endemici (es. Canada)
- ✘ L'uso di strategie "all-in-all-out" è risultato efficace nell'interrompere il ciclo di trasmissione virale all'interno di un'azienda

ORIGINE E DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

- ✘ La PED è stata segnalata per la prima volta in Europa (UK) nel 1971 e in seguito in altri Paesi Europei
- ✘ Negli anni '90 la PED è stata riscontrata con progressiva frequenza in Asia (Giappone, Korea, Filippine, Thailandia, Cina)
- ✘ Inoltre, in Cina sono stati segnalati diversi focolai nel 2010-2013 con un andamento epidemico (simile ai quelli in Italia del 2005-2006)
- ✘ Viceversa in Europa negli anni '80 e '90 i casi clinici attribuibili al PEDV si sono ridotti a pochi casi isolati ed anche la sieroprevalenza si è andata via via riducendo
- ✘ Non vi sono, infatti, altre segnalazioni di episodi importanti ad andamento altamente diffusivo, oltre all'epidemia nel nostro Paese del 2005-2006 [Martelli et al., 2008]

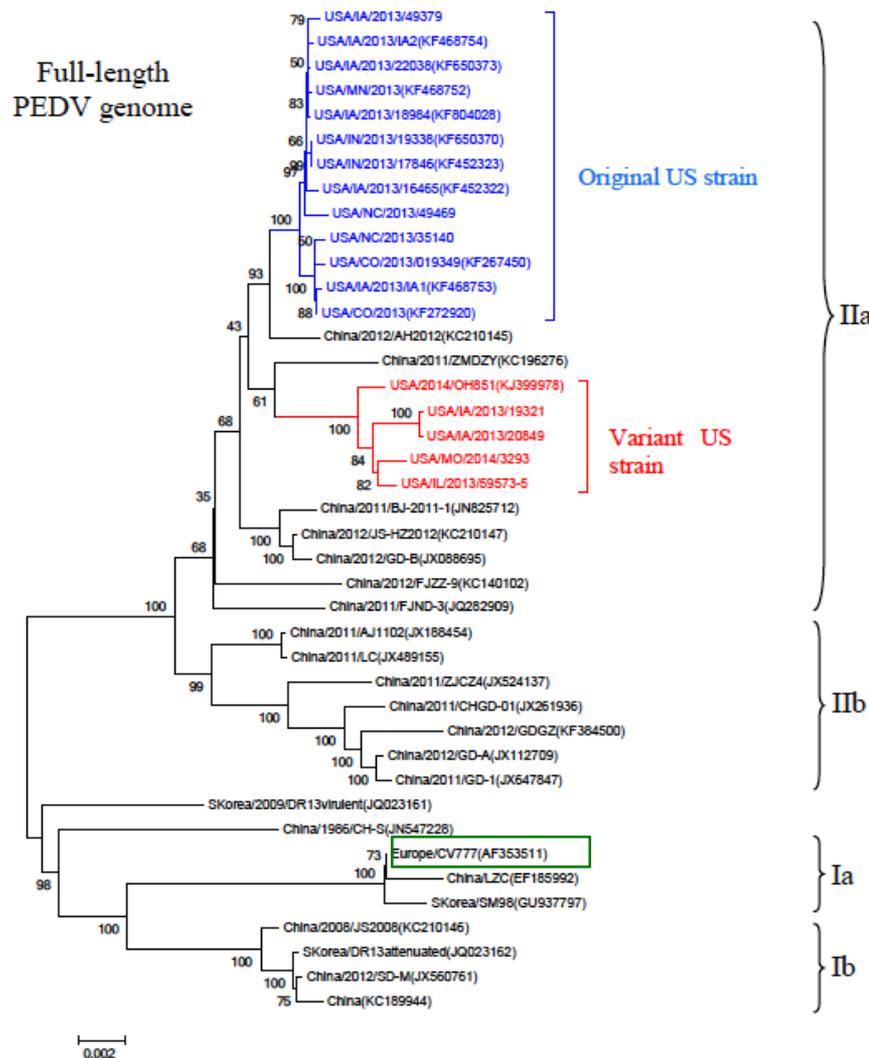
L'EPIDEMIA AMERICANA - Evoluzione

- ✗ Da aprile 2013 una grave epidemia da PEDV ha interessato l'allevamento suino degli USA e del Canada
- ✗ I primi focolai si sospetta siano originati a seguito di importazione di prodotti contaminati (siero di latte?)



- ✗ Al 29/10/2014 sono segnalati 8758 focolai in 31 stati dell'USA e in Canada, cui si associa più recentemente una estensione al Centro e Sud America (Colombia, Repubblica Dominicana, Mexico, Perù etc)

L'EPIDEMIA AMERICANA - Filogenesi



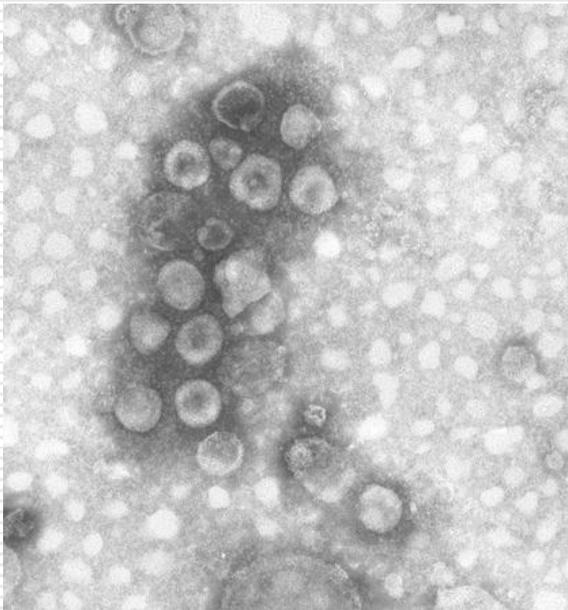
Le analisi filogenetiche hanno evidenziato:

- ✘ clusters differenti da ceppo originale EU
- ✘ una stretta relazione con i ceppi presenti in Asia e in particolare in Cina []
- ✘ una seconda introduzione avrebbe poi portato sul suolo americano un secondo ceppo di origine cinese []

L'EPIDEMIA AMERICANA - Impatto

- ✘ Gravità dei quadri clinici (diarrea) in funzione dell'età
- ✘ Caratteristiche principali della malattia gastroenterica
 - Elevata morbilità in tutte le età (>80%)
 - Elevata mortalità in suinetti sottoscrofa e svezzati (50-100%)
 - Score intestinale / IHC al 2° gg p.i. = >50 % intestino colpito
- ✘ Le perdite stimate in USA sono di 7 milioni di suinetti in un anno (stimato -10% di produzione)
- ✘ L'approccio al controllo della malattia è basato sostanzialmente sulla diagnosi rapida, sull'applicazione di rigide misure di biosicurezza e sul *tracing back* dei movimenti di animali, prodotti e mangimi
- ✘ Se nei paesi “vergini” la PED causa perdite imponenti, nei Paesi in cui è endemica, l'impatto è limitato con focolai sporadici e di minor gravità

LA PED IN ITALIA - Le origini



- ✘ In Italia, la *Porcine Epidemic Diarrhea* (PED) è presente sin dall'inizio degli anni 90
- ✘ La sua diffusione è aumentata con la contemporanea diminuzione e poi scomparsa della Gastroenterite Trasmissibile (TGE), un'altra enterite da coronavirus diffusa negli anni '70-'80
- ✘ Un'onda epidemica di focolai di PED si è verificata all'inizio degli anni '90
- ✘ Da allora è diventata endemica con un andamento sporadico dei focolai ovvero **296 positivi (14.2%) su 2072 campioni esaminati dal 1994 al 2000**

LA PED IN ITALIA - L'ultima ondata epidemica

- ✘ L'ultima “grave” ondata epidemica si è verificata nel 2005-2006 in una vasta area ad elevata densità suinicola della Pianura Padana Italy

The **Veterinary Record**, March 8, 2008

PAPERS & ARTICLES

Epidemic of diarrhoea caused by porcine epidemic diarrhoea virus in Italy

P. MARTELLI, A. LAVAZZA, A. D. NIGRELLI, G. MERIALDI, L. G. ALBORALI, M. B. PENZAERT

There was an epidemic of diarrhoea affecting pigs of all ages in Italy between May 2005 and June 2006. In 63 herds the cause was confirmed as porcine epidemic diarrhoea virus by electron microscopy, immunoelectron microscopy, PCR and serology. Watery diarrhoea without mucus and blood was usually associated with a reduction of feed consumption. In farrowing-to-weaning herds, diarrhoea affected the sows and suckling piglets, and the mortality in newborn piglets was up to 34 per cent. In growers and fatteners the morbidity ranged from 20 to 80 per cent, but there was either no mortality or it was very low. Depending on the size of the herd and the type of operation, the clinical disease lasted for weeks or months.

IEM with anti-PEDV hyperimmune serum. Negative staining with 2 per cent sodium phosphotungstate. Bar=100 nm

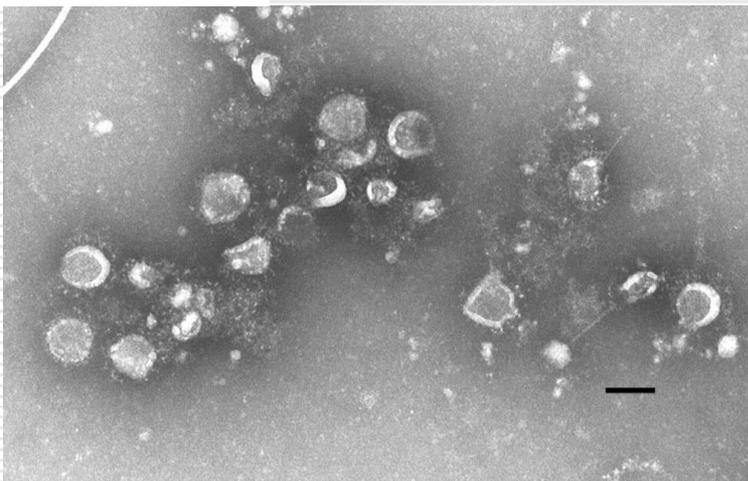


TABLE 1: Numbers of confirmed outbreaks of porcine epidemic diarrhoea on different types of pig farm in Italy in 2005 and 2006

Type of operation	Number of outbreaks	
	2005	2006
Farrow-to-finish	5	18
Weaners	2	2
Finisher	14	22

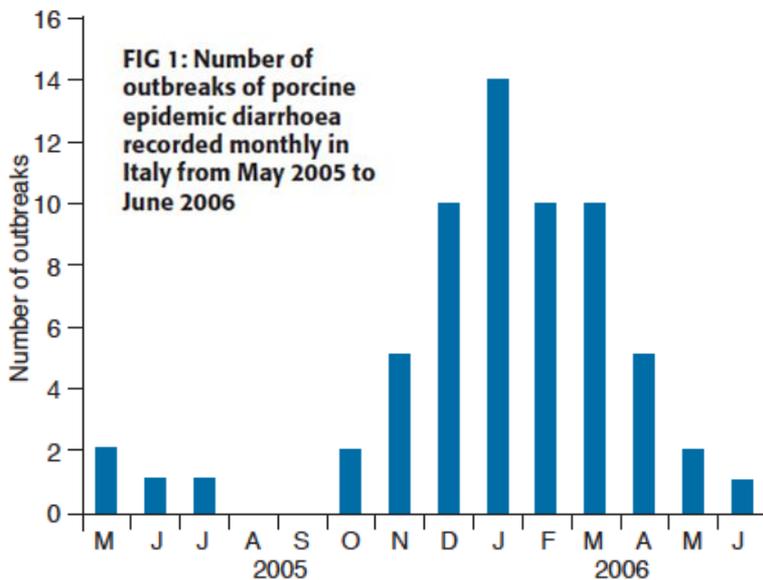


FIG 1: Number of outbreaks of porcine epidemic diarrhoea recorded monthly in Italy from May 2005 to June 2006

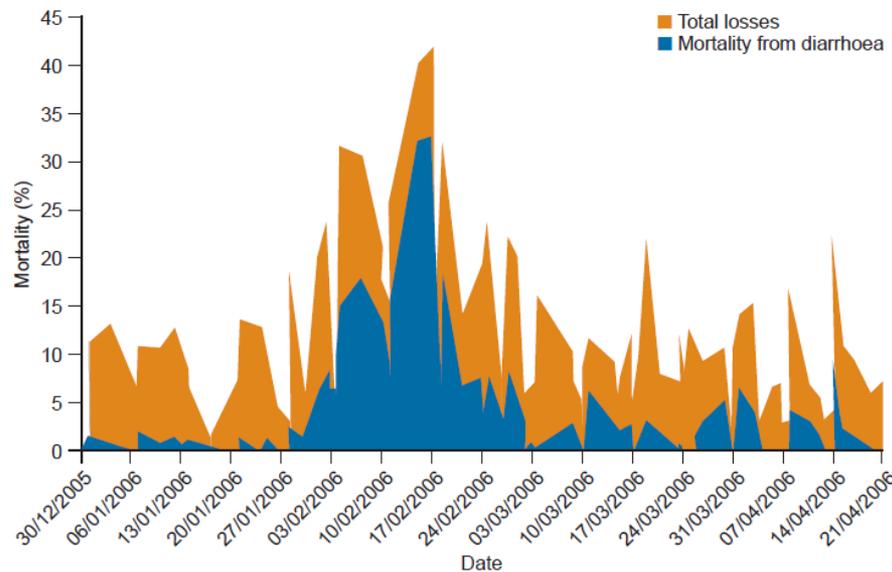


FIG 2: Total preweaning mortality and mortality due to diarrhoea on a farrow-to-weaner herd with 2500 sows in northern Italy between December 2005 and April 2006

LA PED IN ITALIA - Gli ultimi anni....

- ✗ Dal 2008 al 2014 solo casi sporadici in gruppi di grassi e finissaggio:

Year	n° cases examined	n° positive cases	n° positive farms
2008	252	4	3
2009	193	23	16
2010	157	21	19
2011	204	9	9
2012	373	10	9
2013	294	4	2
2014	165	2	2
TOTAL	1638	73	60

- *73 casi di PED*
- *da 60 differenti aziende*
- *su un totale di 1638 casi di enterite (4,46%)*
- *Casi ricorrenti in aziende a distanza di 1-3 anni*

- ✗ Segni clinici e andamento epidemiologico sempre sovrapponibili a quelli osservati in precedenza (nessun caso grave, né aumento dei tassi di mortalità)

- ✗ Analisi genetica eseguita su un totale di **28 ceppi**

Analisi filogenetica dei ceppi PEDV italiani

- ✘ I ceppi clusterizzano in 3 gruppi, differenti dal cluster degli originali isolati **PEDV-EU []**
- ✘ Uno di cluster comprende 2 ceppi isolati nel 2014 (MO-RE) che presentano elevata omologia di sequenza con la variante **PEDV-Am [Ohio851]** nel gene S1

- ✘ Indagini sierologiche eseguite inizialmente nel 2007 e poi sporadicamente negli anni seguenti hanno confermato la presenza endemica dell'infezione in aziende del Nord Italia [Sozzi et al., 2007]

.....e in quest'anno

- ✘ Un'indagine sierologica ha confermato la persistente ed attiva circolazione di PEDV

N° FARM	PROVINCE	POSITIVE/TOTAL	%
1	Mantova	31/59	52,5
2	Cremona	6/29	20,7
3	Mantova	10/24	41,7
4	Mantova	7/27	25,9
5	Brescia	20/55	36,3
6	Brescia	8/28	35,7
7	Cremona	5/29	17,2
8	Cremona	2/30	6,7
9	Cremona	3/29	10,3
10	Mantova	6/29	20,7
11	Modena	13/59	22,0

Anticorpi identificati in:

- *11 aziende su 21*
- *7 - 52% animali testati*

LA PED IN ITALIA - RIASSUNTO

- ✘ Persistenza della PED in aziende italiane dal '90
- ✘ Casi clinici sporadici
- ✘ PEDV inclusa nella diagnosi differenziale di forme enteriche dei suini
- ✘ La maggior parte dei casi identificati durante la sorveglianza di tali casi
- ✘ Ultima ondata epidemica nel 2005-06
- ✘ Dopodiché elevata prevalenza in numerose aziende
- ✘ Bassa incidenza di forme cliniche moderate dal 2007

LA PED IN ITALIA - CONCLUSIONI

- ✘ In Italia viene attuata una **sorveglianza** continua per PEDV, associata a opportune misure **di biosicurezza**
- ✘ L'utilizzo associato di un insieme di **metodi diagnostici di screening e di conferma** (cELISA, DAS-ELISA, IEM, pan-coronavirus RT-PCR, PEDV RT-PCR) garantisce una identificazione precoce ed anche la possibilità di identificare virus differenti (delta coronavirus, TGEV, PRCV, altri?)
- ✘ Le tecniche di sequenziazione, inclusa sequenziazione dell'intero genoma (NGS, HTS) sono utilizzate per lo studio della **variabilità genetica**

LA PEDV IN EUROPA NEL 2014

Table 3: Info on PEDV occurrence in European countries in the period 2004-2014 provided to EFSA by country representatives of the AHAW Network

Country	Info provided to EFSA
DE, GR, IS, LT	No data
BE, DK, ES, FI, FR, LV, NO, SE, SI, UK	Not reported
AT, UK	Not reported (diarrhoea submissions negative in PCR)
FI	Not reported (samples of pigs with clinical symptoms are tested using the Antigen Rapid PED Ag Test kit and were negative in 2010 (n=3), 2011 (n=6), 2012 (n=23), 2013 (n=38) and 2014 (n=1 until May))
NL	Negative since 2003 (autopsy)
HU	Outbreak in one farm in 2009 (12 piglets)
EE	Outbreak in 2010 (not documented), few cases in 2011 and 2012, no data 2013
IT	Outbreak 2005-2006 (see Table 2). From 2008 to 2014 only sporadic outbreaks were observed in growers and finishers herds: 71 PED cases in 58 different farms, out of 1563 cases of enteritis (4.54%). 2011 (n=18), 2012 (n=19) and 2013(n=8)

Table 4: Information on current PEDV-specific seroprevalence in European countries obtained from country representatives of the AHAW Network

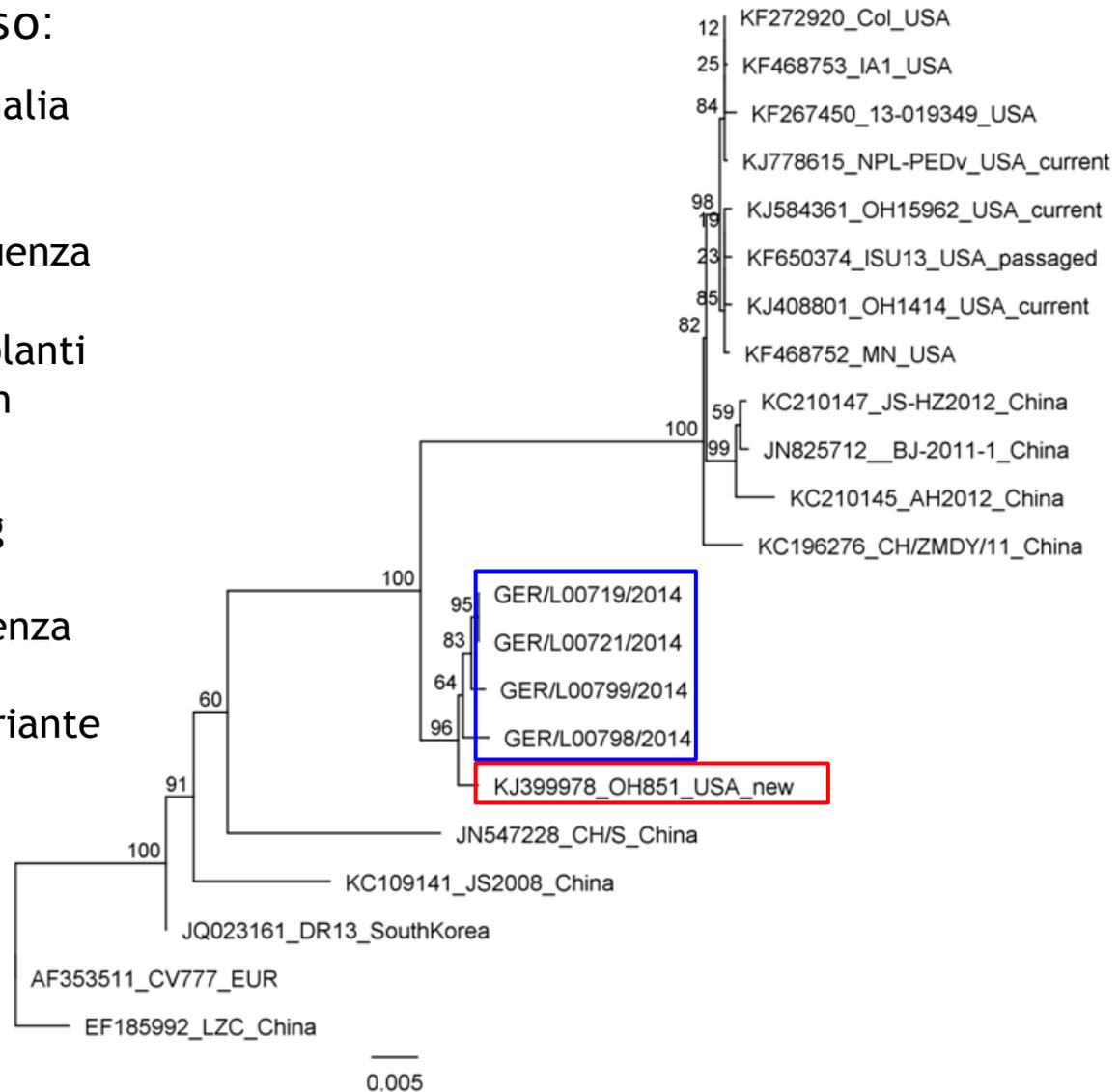
Country	PEDV-specific seroprevalence
AT, DE, EE, ES, FI, FR, GR, HU, IS, LT, LV, NL, NO, SE, SI	No data
BE	Negative (IPMA assay, 92 farms throughout the country, 5 serum samples per farm, 2014)
DK	Negative (in-house ELISA; approximately 2500 swine sera per year between 2000 and 2006 with no positive results reported during this period)
IT	Antibodies were found in 11 out of 21 farms in 7% to 52% tested animals
UK	94/206 sera were positive for PEDV-antibodies between 2007 and 2012; estimated GB national level seroprevalence is 9% based on samples collected in framework of a Salmonella study in 2013 (558 pigs sampled in 12 abattoirs and originated from 395 farms)

EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2014. Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging pig deltacoronavirus. EFSA Journal 2014;12(10):3877, 68 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3877

Analisi filogenetica dei ceppi PEDV tedeschi

Due focolai indipendenti nel 2014 in suini all'ingrasso:

- ✘ uno in North-Rhine Westphalia (quasi 100% mortalità ma mortalità nulla in grassi e finissaggio). Analisi di sequenza ha mostrato > identità di sequenza con i PEDV circolanti in USA (99% identità con un frammento del gene S)
- ✘ uno in Baden-Württemberg (diarrea acquosa, 1.4% mortalità). Analisi di sequenza ha mostrato > identità di sequenza con la nuova variante PEDV-Am (99.5% identità dell'intero genoma con **PEDV-Am OH851 []**)



PEDV IN EUROPA NEL 2014 - RIASSUNTO

- ✘ PEDV identificata solo in Germania e Italia
- ✘ Nella maggior parte dei Paesi, mancata implementazione di piani di monitoraggio attivi
- ✘ Pochi dati sierologici, test non validati (specificità e sensibilità sconosciute)
- ✘ Ceppi PEDV ad elevata omologia di sequenza con ceppi americani isolati e circolanti in Europa
- ✘ Necessarie più analisi e dati di sequenza per capire l'evoluzione della PEDV in Europa e possibili relazioni con ceppi circolanti in altre parti del mondo

“PIG DELTACORONAVIRUS” PDCoV

- ✘ Nuovo DeltaCoV identificato nel 2012 a Hong Kong e ancora ggi presente in Cina
- ✘ In USA nel feb. 2014 e poi Canada, associato a diarrea suina. Non segnalato in Europa
- ✘ Identificazione con ME da feci e RT-PCR pancoronavirus
- ✘ A giugno 2014, PDCoV identificato in 277 aziende in 15 stati USA
- ✘ Malattia clinica simile a PED, vomito e diarrea
- ✘ Co-infezioni con PEDV (20-80% dei campioni)
- ✘ PDCoV RNA identificato in contenuto intestinale, feci e mangimi ma nessuna evidenza in liquami, seme, embrione, sangue, SDPP
- ✘ Impatto limitato rispetto a PEDV
- ✘ Nessuna attitudine zoonosica

COSA CI RACCOMANDA IL REPORT EFSA ?

EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2014. "Scientific Opinion on porcine epidemic diarrhoea and emerging pig deltacoronavirus". EFSA Journal 2014;12(10):3877, 68 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3877

TOR1: The current epidemiological situation in North America and Asia and elsewhere in the world as regard PED and the new porcine deltacoronavirus

- ✘ Promote harmonized diagnostic tools for PEDV as well as for PDCoV

TOR3: Possible differences between the European classical PED alphacoronavirus strains and the ones currently circulating in the rest of the world, in particular in the Americas, and the possible existence of cross-protecting immunity

- ✘ The **genetic sequence** of further recent PEDV-EU isolates should be determined to understand PEDV evolution in Europe and the possible link with PEDV-Am and/or PEDV-As strains
- ✘ Comparative animal studies including PEDV-EU, PEDV-Am and PEDV-As strains should be performed to obtain knowledge on their **differences in virulence**
- ✘ More knowledge is required regarding the cross-protection between PEDV-EU, PEDV-Am and PEDV-As strains, which could be acquired by performing **cross-infection experiments**

COSA CI RACCOMANDA IL REPORT EFSA

TOR4: Impact of the different PED alphacoronavirus strains and of the new porcine deltacoronavirus in pigs in different immunological scenarios

- ✘ The assessment of the possible impact of PEDV infection in the EU would require monitoring of the **PEDV-seroprevalence** level in Europe

TOR2: Characterisation of the new porcine deltacoronavirus as an emerging disease, especially as regards the severity of the disease induced

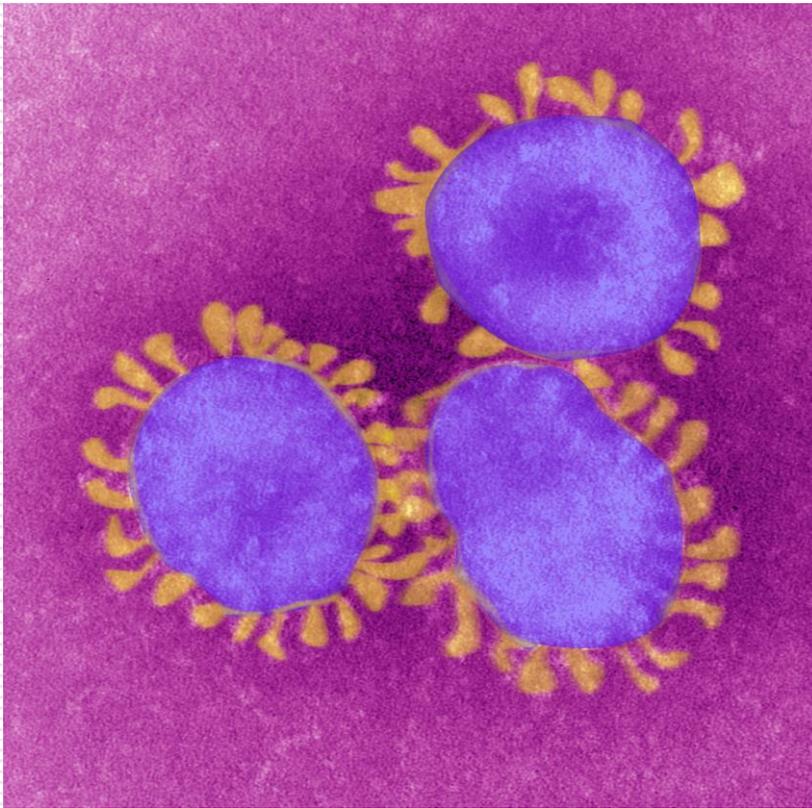
- ✘ Experimental studies are needed to obtain more knowledge on the pathogenesis and clinical signs of PDCoV infection

TOR5: Risk assessment of potential entry routes of PED and the new porcine deltacoronavirus in the EU ranking them on the basis of the level of risk with a view to enhance risk mitigation, prevention and preparedness

- ✘ More knowledge is required to assess the importance of feed components, blood and semen in the spread of PEDV
- ✘ Cross-contamination of any object or feed with intestinal contents and faeces from PEDV-infected pigs should be prevented
- ✘ The influence of variations in spray-drying processes should be validated more extensively for PEDV

RINGRAZIAMENTI

Enrica Sozzi, Alice Papetti, Davide Lelli, Ana Moreno,
Emiliana Brocchi, Andrea Luppi, Paolo Cordioli



***GRAZIE PER
L'ATTENZIONE!***