

# Genetisk karakterisering af Horsens virus

**DVHS den 7. November 2019**

Lars Erik Larsen, KU

Lise Kvisgaard, DTU

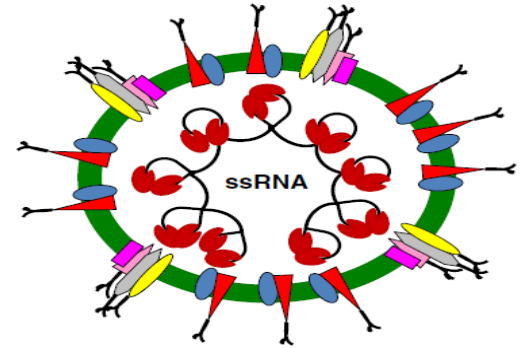
Pia Ryt-Hansen, DTU

UNIVERSITY OF COPENHAGEN



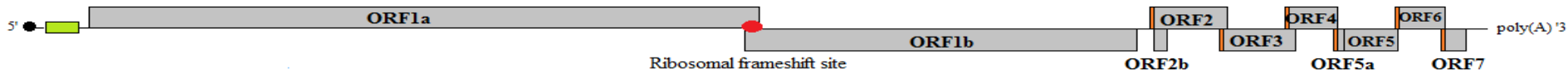
# PRRSV

- PRRSV tilhører *Arteriviridae* familien i *Nidovirales* ordenen
- Lille (50-65 nm), kappet RNA virus
- Enkeltstrenget positiv-orienteret genom, ~15 kb langt
- Genomet koder for mindst 10 åbne læserammer (ORFs)



Music and Gagnon 2010

PRRSV genom:

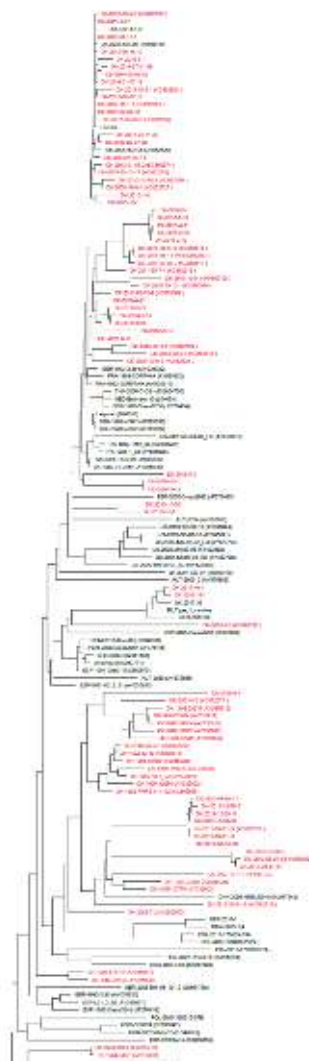


# PRRSV-1 diversitet i Danmark 1992-2018

- Overordnet er de danske PRRSV-1, subtype 1 stammer 81 – 100 % identiske
- PRRSV-1 subtype 2, 3 or 4 er ikke set i Danmark eller vesteuropa
- Det fylogenetiske træ fortæller en historie 😊

Cluster 2

Cluster 1

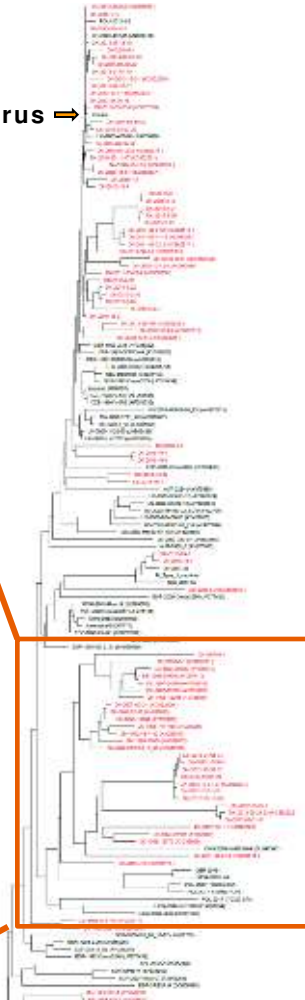
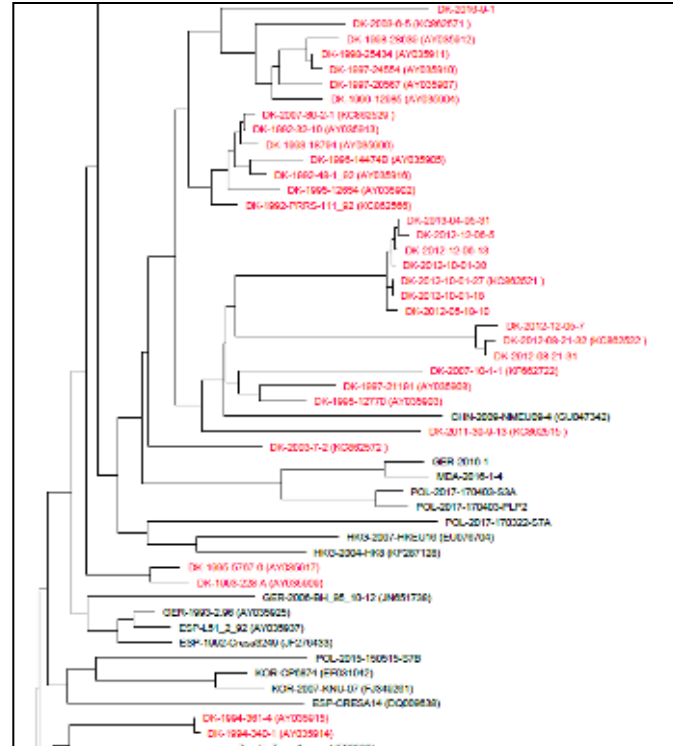


# PRRSV-1 diversitet i Danmark 1992-2018

Porcilis vaccine virus →

## Cluster 1 (det "Danske" cluster): 1992-2018

- Inkludere det første udbrud fra 1992
- 84 – 93 % identitet til Porcilis vaccine stammen
- 86 - 99.7% identitet mellem de danske stammer i cluster 1
- Diversiteten har været den samme de sidste 15 år



# PRRSV-1 diversitet i Danmark 1992-2018

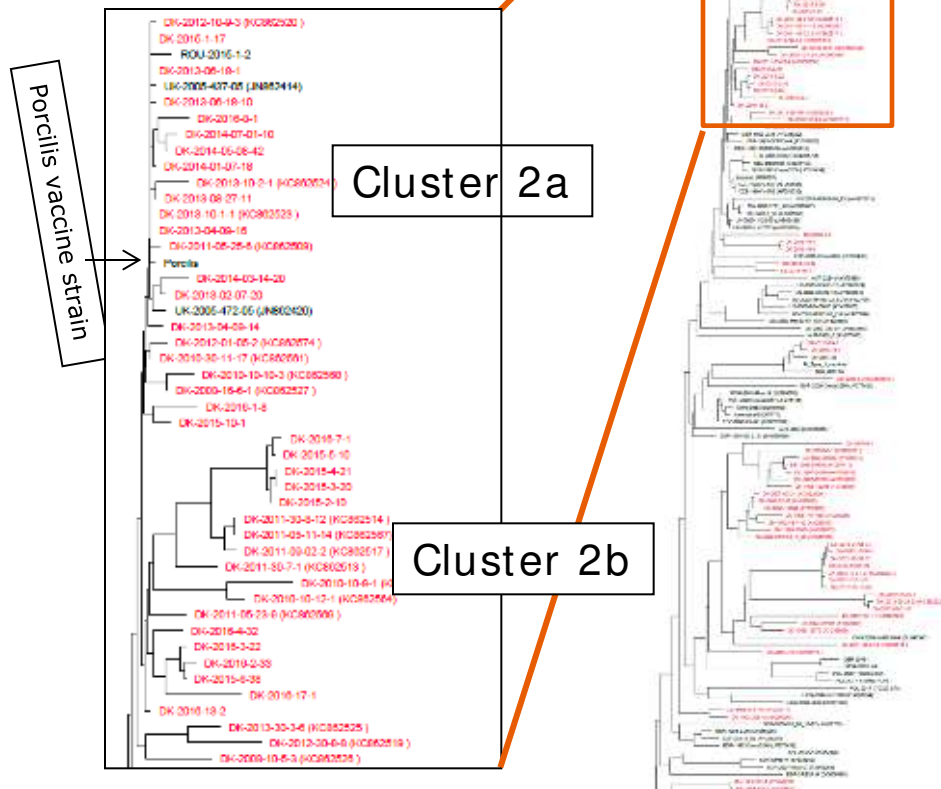
## Cluster 2 (Porcilis cluster): 2008-2018

### • Cluster 2a

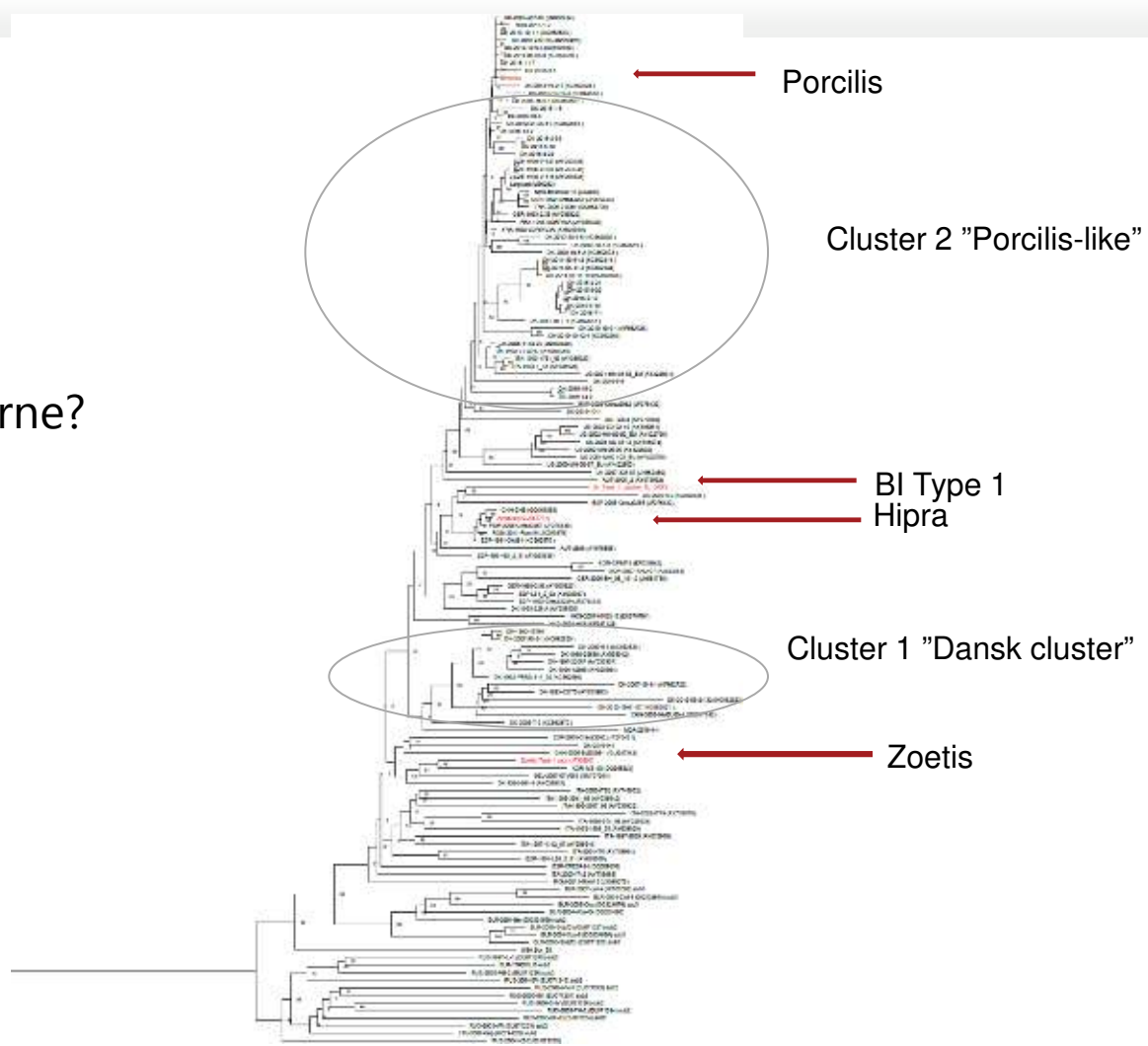
- 98-99.8 % identitet til Porcilis
- 96-100 % identitet mellem stammerne i dette cluster
- **Repræsentere sikkert vaccinstammer eller vaccine virus der for nyligt har spredt sig**

### • Cluster 2b

- 95-99.3% identitet til Porcilis
- 92-100% identitet mellem stammerne i dette cluster
- **Repræsentere ældre vaccine-lignende stammer**



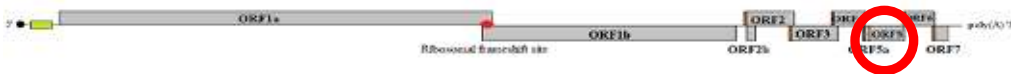
Hvordan ligger vaccine stammerne?



## Genetisk karakterisering af "Horsens"

ORF 5 Sekvens

21800 ORF5 sekvenser i GenBank!



DK Cluster 2



Horsens

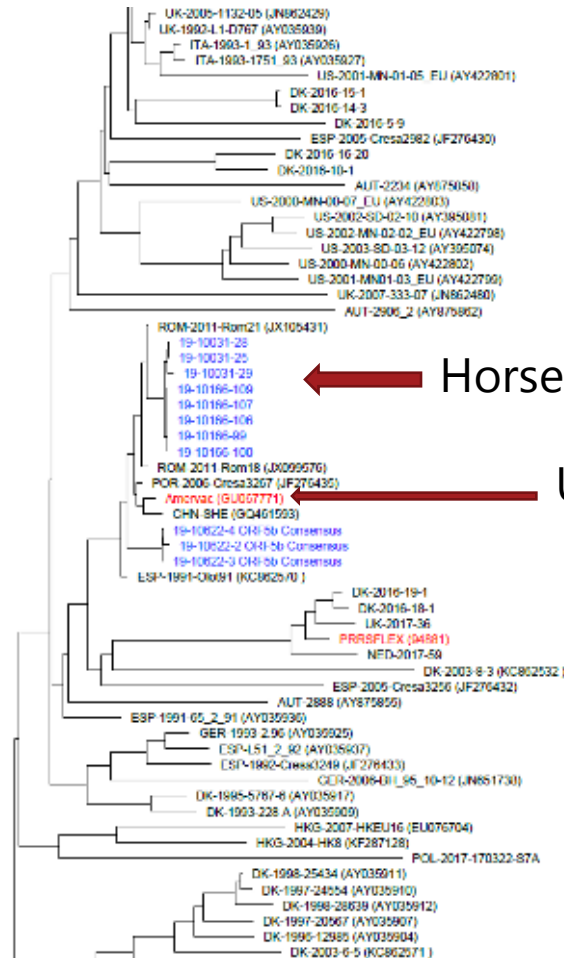
DK Cluster 1

# Zoom af ORF 5

Amervac (GU067771)ORF2-7selection

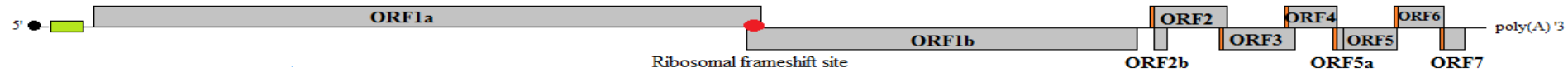
19-10166-106 ORF5 Consensus  
 19-10166-107 ORF5 Consensus  
 19-10166-109 ORF5 Consensus  
 19-10166-100 ORF5 Consensus

	1	2	3	4	5
1		6	6	6	6
2	99.01		0	0	0
3	99.01	100.00		0	0
4	99.01	100.00	100.00		0
5	99.01	100.00	100.00	100.00	





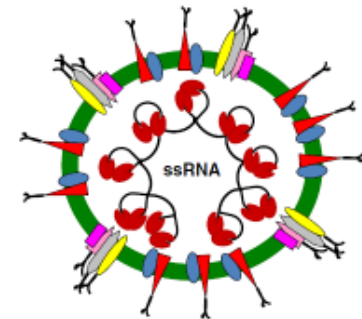
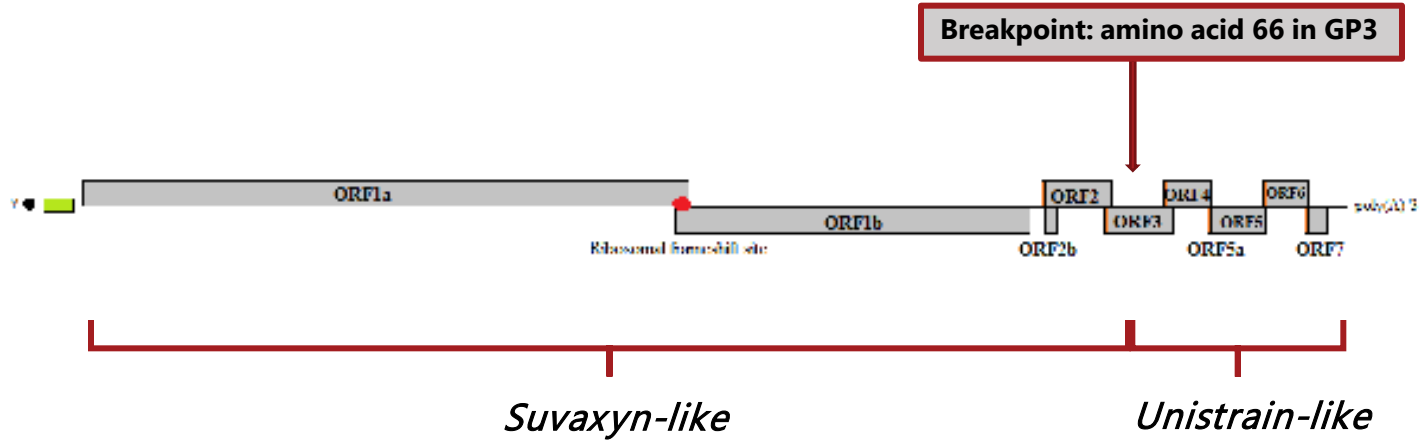
# Fuld genom sekventering



# Resultat af fuld genom sekventeringen

ORF/protein	% identity to 96V198		% identity to Amervac	
	Nucleotides	Amino Acids	Nucleotides	Amino Acids
ORF1-7	98.06 (287)*	NA	91.95 (1189)	NA
ORF1a/pp1a	99.62 (27)	99.25 (18)*	91.41 (618)	91.44 (205)
ORF1b	99.73 (12)	NA	89.00 (483)	NA
ORF1ab/pp1ab	99.66 (39)	NA	90.48 (1101)	NA
ORF2a/GP2	98.80 (9)	97.19 (7)	92.80 (54)	93.98 (15)
ORF2b/E	95.77 (9)	97.14 (2)	98.59 (3)	95.71 (3)
ORF3/GP3	90.10 (79)	90.57 (25)	96.74 (26)	94.72 (14)
ORF4/GP4	87.14 (71)	85.79 (26)	99.09 (5)	98.91 (2)
ORF5/GP5	88.84 (67)	91.04 (18)	99.01 (6)	97.51 (5)
ORF5a/ORF5a protein	90.91 (12)	86.05 (6)	99.24 (1)	100 (0)
ORF6/M	92.91 (37)	94.22 (10)	99.43 (3)	98.84 (2)
ORF7/N	93.28 (26)	92.97 (9)	99.74 (1)	99.22 (1)

# Endelig analyse



## Diskussion – Er rekombination almindeligt for PRRSV-1

- Rekombination mellem feltstammer er rapporteret med stigende hyppighed de senere år i flere lande – også DK
- Rekombination mellem feltstammer og vaccinstammer rapporteret fra UK, Kina, Ungarn
- Rekombination mellem 2 vaccinstammer rapporteret fra Frankrig (Unistrain og Porcilis)
- Er det blevet mere almindeligt eller opdager vi det bare nu hvor vi kan lave fuld genom sekventering?
- For nogle typer af rekombination har de vist sig ikke at være stabile – de forsvinder efter kort tid

## Diskussion – Hvordan opstår de?

- Kræver infektion af den samme celle med to forskellige virus
- Kræver derfor at der er to forskellige virus i besætningen på samme tid
- Kræver at rekombinationen er konkurrencedygtig (Bottleneck!!)
- Er den stigende anvendelse af massevaccination synderen?

# Diskussion – Er rekombinante virus farligere end feltvirus?



Article

## A Field Recombinant Strain Derived from Two Type 1 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV-1) Modified Live Vaccines Shows Increased Viremia and Transmission in SPF Pigs

Julie Eclercy <sup>1,2</sup>, Patricia Renson <sup>1,2,3</sup>, Arnaud Lebret <sup>4</sup>, Edouard Hirschaud <sup>2,5</sup>,  
Valérie Normand <sup>4</sup>, Mathieu Andraud <sup>2,6</sup>, Frédéric Paboeuf <sup>2,7</sup>, Yannick Blanchard <sup>2,5</sup>,  
Nicolas Rose <sup>2,6</sup> and Olivier Bourry <sup>1,2,\*</sup>

- Meget få data på dette, men muligheden for at der kan opstå et virus der er mere virulent er bestemt tilstede...men vi har stadig ikke identificeret virulens markører i PRRSV

# Ubesvarede spørgsmål

- Er dette virus mere virulent end de sædvanlige virus
  - Kan kun afgøres ved eksperimentel infektion – under planlægning
- Virker vaccinerne på dette virus?
  - Igen – eksperimentel vaccination/challenge er nødvendig for at belyse dette
- Hvordan kan to svækkede stammer rekombinere og danne en mere virulent stamme?
  - Kræver meget mere forskning – svaret er formodentligt kompleks ellers var de genetiske markører sikkert fundet!

# Spørgsmål?