

УДК 619:616.98: 578. 833.27Э:636.4

Северин Р.В., здобувач²,
Щетинський І.М., к. вет. н., професор ХДЗВА³
Харківська державна зооветеринарна академія

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ 2-ГО ТИПУ ЦИРКОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ СВИНЕЙ, ЗМОДЕЛЬОВАНОЇ З ВИКОРИСТАННЯМ УКРАЇНСЬКОГО ІЗОЛЯТУ ЗБУДНИКА

Встановлено, що ЦВІС у вигляді синдрому мультисистемного виснаження поросят (PMWS) проявляється, як правило, у період активного формування ензоотичних осередків, тоді як синдром дермо-нефропатії (PDNS) – проявляється уже в сформованих стаціонарних осередках – ЦВІС, де гострота ситуації з синдромом виснаження йде на спад. Проведені патогістологічні дослідження засвідчили нейротропність виділеного нами ізоляту «Слобідський» ЦВС-2, яка проявляється у присутності парвовірусу свиней. Особливістю патогенетичної дії ізоляту «Слобідський» ЦВС-2 є первинність ураження головного мозку сисунів за типом з тяжким гемодіномічними розладами менінго-енцефаліту і вторинність легеневої та ниркової патології.

Ключові слова: цирковірус 2-го типу, парвовірус, мультисистемний синдром виснаження, синдром дермато-нефропатії, енцефаліт, поросята.

Вступ. Цирковірус свиней широко розповсюджений у світі і може завдавати значних збитків галузі свинарства.

Циркуляція збудника ЦВС-2 призводить не лише до проявів клінічної маніфестації та загибелі, але й в значній мірі негативно впливає на імунітетні органи свині, що не дозволяє створювати тривалий імунітет після застосування будь-яких вакцин проти інфекційних захворювань. ЦВС-2 протікає у двох формах синдрому мультисистемного виснаження відлучених поросят і захворювання, для якого характерна дермально-нерво-легенева-нефральна клініка (PDNS).

Матеріали і методи дослідження. Для зараження новонароджених поросят в умовах інфекційного ізолятора використовували вірус утримуючий матеріал з паренхіматозних органів та культуральні віруси. При постановці біопроб для виділення ЦВС-2 брали сисунів від серонегативних маток, заражали перорально, інтраназально, внутрішньочеревно. Досліджували клініко-морфологічно, серологічно та застосовували ПЛР.

Біопробу ставили у ветеринарному ізоляторі на новонароджених поросятах, яких утримували за умов штучного годування (кожну експериментальну групу окремо). Зразками слугували як проби паренхіматозних органів, так і культуральні віруси. 30% суспензію досліджуваних паренхіматозних органів (об'єднана проба

² Науковий керівник - Головка В.О. доктор ветеринарних наук, професор, академік НААНУ, заслужений діяч науки та техніки.
Северин Р.В., Щетинський І.М., 2011

легень, селезінки та кишечних лімфовузликів) освітлювали центрифугуванням 30 хв при 3000 об/хв, потім ретельно перемішували у співвідношенні 1:1 з хлороформом (без перекисів) 15хв. і знову центрифугували у тому ж режимі. Для інокуляції поросят використовували прозорий надосад (після 1 годинної витримки при 37⁰С під ватно-марлевою пробкою для випаровування надлишку хлороформу). Культуральні матеріали вводили тваринам після оброблення антибіотиками.

Референтний штаб «Nadle-8» парвовірусу свиней, депонований в ННЦ «ІЕКВМ» (отриманий з референс-лабораторії МЕБ при ННЦ «PIWet» Польщі, м. Пулава). 18-22-й пасажі у культурі перещеплюваних клітин нирки свині, вільної від цирковірусу 1-го типу (активність 4,5 - 5,5 lgID_{50/см³})

Ізолят «Слобідський-08» 2-го типу цирковірусу свиней, виділений в ХДЗВА на підсисних поросятах та адаптований в ННЦ «ІЕКВМ» до перещеплюваної культури клітин нирки свині лінії РК-15. 1-12-й пасажі у культурі перещеплюваних клітин нирки свині, вільної від цирковірусу 1-го типу (активність 5,5-7,5 lgID_{50/см³})

Результати дослідження.

В період з 2008 по 2011 роки нами було обстежено 89 свинотоварних господарств і в 37 із них, що становить 41,6%, був зареєстрований синдром мультисистемного виснаження поросят (PMWS) і паралельно з ним у 44 господарствах – 49,4% синдром дермо-нефропатії (PDNS). Аналіз даних епізоотологічних обстежень показав, що синдром PMWS у всіх випадках передував синдрому PDNS. Як правило, у обстежених господарствах перший спалах 2-го типу цирковірусної інфекції проявлявся у вигляді масового виснаження поросят групи дорощування, а шкіряні ураження реєструвалися лише через півроку – рік після «першої хвилі» епізоотії – спочатку масовими, а потім спорадичними проявами ураження шкіри свиней груп 2-4 та 4-6 у вигляді плямистих виразок. За результатами проведених досліджень синдром PMWS домінував серед поросят місячного-двохмісячного віку з захворюваністю у межах 10-20% і смертністю підчас епізоотичного спалаху (перша хвиля епізоотії) 70-80%. У той же час синдром PDNS уражував переважно молодих свиней віком 4 місяці і старше з показником смертності серед хворих свиней 18-20% та тривалістю захворювання не менше 50-70 діб.

У перебігу клінічно-епізоотологічних досліджень ми звернули увагу на присутність у синдромокомплексах як PMWS, так і PDNS симптомів, пов'язаних з розладами центральної нервової системи та гормональної регуляції росту.

Для з'ясування характеру цих виявлених патологій ми відтворили синдром PMWS за методикою, розробленою спільно з вченими ННЦ «ІЕКВМ» (інтраперітонеальне зараження ізолятом «Слобідський» ЦВС-2 у суміші зі штамом NADL-8 ПВС, метод патентується), на поросятах сисунах (n=8).

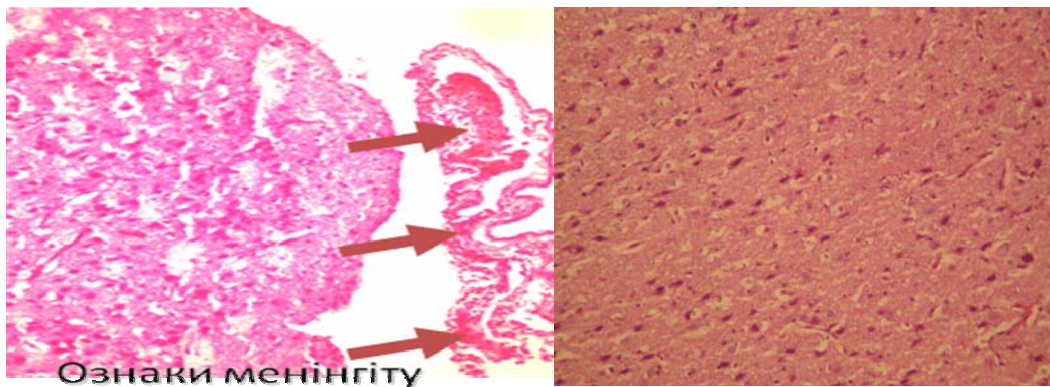
Верифікацію діагнозу проводили по результатам ІФА, ПЛР, присутність вірусу виявили в головному мозку, легенях, нирках та лімфоцитопоетичних органах.

Таблиця 1.

Результат обліку біопроб.

Інокулят	Спосіб зараження	Вік	Результати обліку біопроб через (діб)					
			5 діб			10 діб		
			Клінічно-морфологічні прояви	РПГА	ПЛР	Клінічно-морфологічні прояви	РПГА	ПЛР
Ізолят Слобідський ЦВС-2	Інтраперітонеально	3-5 діб	Немає (n=7)	0 (n=7)	Н.д.	Немає (n=7)	0 (n=7)	Н.д.
Шт. NADL-8 ПВС			Немає (n=5)	0 (n=5)	Н.д.	Немає (n=5)	0 (n=5)	Н.д.
Ізолят Слобідський ЦВС-2 + шт. NADL-8 ПВС			Виснаження (n=12) "раптова смерть" (n=3)	0 (n=12)	ЦВС-2 (n=3)	Виснаження (n=9) "раптова смерть" (n=9)	1:8-1:32 (n=7)	ЦВС-2 (n=2)

У заражених поросят констатували наявність ознак тяжкої нервової патології, у заражених – адиномія, апатія, сонливість, світлобоязнь.



Ознаки менінгіту

Рис.1 А- кровонаповнення та набрякання мозкової оболонки, розширення сурахноїдального простору. Гістопрепарат. Фарбування: гематоксилін-еозин. Ахіоскоп – 40.Х20. Б- Енцефаліт. пікнотизація, глії, ділянки мікроенцефаломатії, периваскулярні та перцелюлярні набряки. Фарбування: гематоксилін-еозин. Ахіоскоп – 40.Х20.

До цих ознак в послідууючому добавилося: слабке, рідке дихання, поколювання, витік з носу, синюшність видимих слизових оболонок та шкіри, послаблений диенурез. За результатами проведеного патоморфологічного дослідження трупи виснажені, без ознак задубіння, з наповненою не звернутою темно-червоного кольору кров'ю судин підшкірної клітковини та шкіри.

Лімфатичні вузли, ньобні мигдалики, тимус, селезінка, підепітеліальні лімфоїдні утворення з сохральною формою але з об'ємом значно меншим ніж потрібним зі стертим малюнком внутрішньої будови, окремі лімфатичні вузли грудної і черевної порожнин з помірним серозним набряканням.

За результатами патоморфологічного дослідження - в оболонках головного мозку зміни, характерні для гострого серозного менінгіту, в мозку – енцефаліту з сильними гемоденамічними розладами при відсутності характерних для енцефалітів нейронофагів та периваскулярних лімфоїдних скупчень, в судинах мозку нерівномірне кровонаповнення, поряд з гіпереміями, ішемії, стази, у випадку гіперемії – концентрична і одностороння вазолідація, периваскулярний та перинеуроцитарний набряк; інвагінація, в нейроцитах – зміни характерні для тяжкого захворювання нервових клітин, набряку та їх розпаду, масова загибель гліальних елементів через пікнотизацію, в фрагментацію і через перетворення паличковидні форми (рис.1). В деяких містах, де має місце ішемізація судин – дрібні вогнища енцефаломалачії без реактивних патологій зі сторони їх оточення.

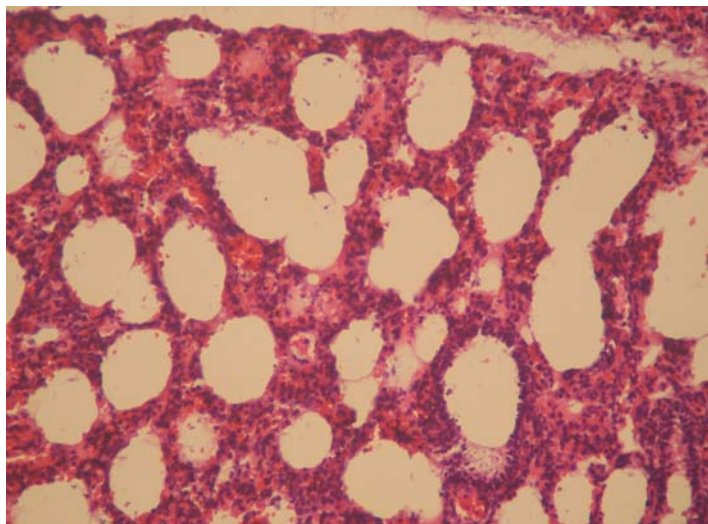


Рис.2 Кровонаповнення судин легень з набряком стінок альвеол. Гістопрепарат. Фарбування: гематоксилін-еозин. Ахіоскоп – 40.Х20.

Легені із сильним набряком та кровонаповненням, при патогістологічному дослідженні різке розширення просвіту капілярів та дрібних вен, просвіт розширених кровоносних судин заповнений великою кількістю еритроцитів, клітини ендотелію набрякли, в деяких місцях сильно виступають в просвіт судин, в м'язевому шарі артерій гладенькі м'язові клітини набухають інші подовжуються, в першому і другому випадку ядра також подовжуються (рис. 2). Навколо судин із

зміненими стінками накопичуються різні клітинні елементи, багато з них з цитоплазмою, в яких знаходяться метахроматично зафарбовані субстрати.

Таким чином в легенях розвиваються зміни, які характерні для легеневої патології, що виникає внаслідок виключення чутливої іннервації легенів.

В нирках у досліджуваних тварин нерівномірність, мозаїчність кровонаповнення, окремі ділянки нирок сильно кровонаповнені, а в інших слабодіючих кровонаповнення слабке.

За результатами патогістоло-гічного дослідження в нирках своєрідні

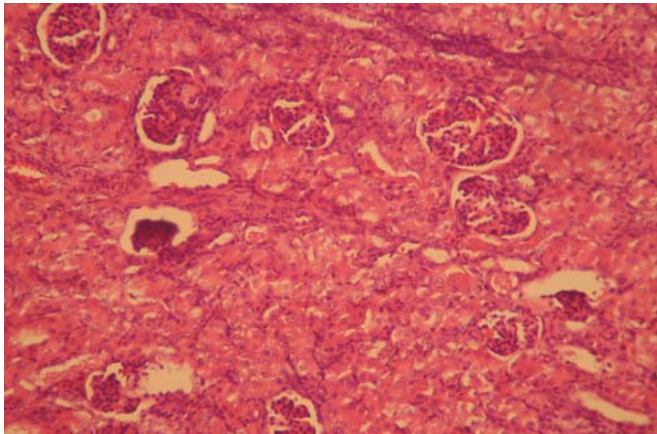


Рис.3 Мозаїчне кровонаповнення нирок. Атрофії та некрози судинних клубочків. Фарбування: гематоксилін-еозин. Ахioscop – 40.X20.

секторіальні, гемодинамічні розлади, сектор з тим або іншим розладом - це радіальний сектор, він починається від кори і тягнеться через мозковий шар до соска мозкової лоханки. Цей сектор або з сильним кровонаповненням судинного клубочку, судин, які проходять в глиб нефронів і судинних елементів естомедулярного шунта, або з ішемізацією таких складових. В зоні гіперемії в епітеліальних клітинах нефронів помірно по силі набрякання, вакуолізації в зоні ішемії – десквамації, диспротенінози, дісліпідозу,

атрофії і сухі некрози. Характерним являється відсутність в зонах деструкції процесів клітинної інфільтрації – лімфоцитів, нейрофілів, моноцитів (рис. 3).

Таким чином в нирках розвивається нефропатія, основою якої є судинні розлади, а не запалення нирок

Засновуючись на отриманих результатах, ми вважаємо, що синдром мультисистемного виснаження поросят (PMWS) є первинною формою 2-го типу цирковірусної інфекції свиней. У той же час синдром дермо-нефропатії (PDNS) є формою ЦВС-2, яка у епізоотологічному відношенні є похідною від PMWS. З іншого боку, можливо, що для розвитку синдрому PMWS в організм повинно поступати відносно невелика доза інфекційно активного цирковірусу, а для синдрому дермо-нефропатії (PDNS) – велика, або надійти, або утвориться у процесі розмноження вірусу у відповідних органах-мішенях.

Висновки.

ЦВІС у вигляді синдрому мультисистемного виснаження поросят (PMWS) проявляється, як правило, у період активного формування ензоотичних осередків, тоді як синдром дермо-нефропатії (PDNS) – проявляється уже в сформованих стаціонарних осередках – ЦВІС, де гострота ситуації з синдромом виснаження йде на спад.

Патогістологічні характеристики захворювання свідчать про нейротропність виділеного ізоляту ЦВС-2.

Особливістю патогенетичної дії ізоляту «Слобідський» ЦВС-2 є первинність ураження головного мозку сисунів за типом агресивного менінго-енцефаліту, для якого характерні тяжкі судинні розлади.

Розвиваючих під впливом досліджуемого цирковірусного ізоляту легеневої та нефральні патології виникають як наслідок блокування нервової регуляції легень і нирок.

Література

1. Гериллович, А.П. Создание системы индикации цирковирусов свиней типа 2 [Текст] /Гериллович, А.П. // Мат. 6-й междунар. конф. по мол. диагн. (М., 27-29 ноября 2007). – 2007. – т.2 – с. 117.
2. Епізоотична ситуація в свинарстві України і сусідніх держав. Лабораторний моніторинг: праці науково-практичної конференції з проблем м'ясного свинарства [Прогресивні технології у м'ясному свинарстві],(Алушта, 13 – 16 вересня 2010 р.), Київ, 2010, С.21-25
3. Легкие в патологии. Часть 2. Аллергические заболевания дистрофические процессы, нарушения гемодинамики и иннервации [Под ред. Есипова И.К.] Н.: «Наука» - 1975. – 248 с.
4. Никифоров А. Ф. Изменения в тканях легких после выключения чувствительной иннервации С. 89-122
5. Роздільський Б.І. Основи клініко-морфологічної невропатології / Роздільський Б.І., Зозуля І.С., Сандуляк Л.І. – К.: Здоров'я, 1992. - 240с.
6. Allan G. PCV2: ticking time bomb? /Allan G, Krakowka S, Ellis J // – Pig Progress – 2002.–№18.–P. 14–15.
7. Allan GM. Porcine circoviruses: a review /Allan GM. Ellis JA//–J Vet Diagn Invest –2000.–№12.–P. 3–14.
8. Chianini F. Immunohisto- logical study of the immune system cells in paraffin-embedded tissues of conventional pigs /Chianini F, Major N, Segalors J, et al//–Vet Immunol Immunopathol –2001.–№82.–P. 245–255.
9. Krakowka. Immunologic features of porcine circovirus type 2 infection / Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, et al.//–Viral Immunol –2002.–№15.–P. 567–582.
10. Krakowka S. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of post- weaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus /Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, et al//– Vet Pathol –2000.–№37.– P. 254–263.
11. Magar R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2 /Magar R, Mueller P, Larochelle R//–Can J Vet Res – 2000.– №64.– P. 184–186.
12. Opriessnig T. Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfecting with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus /Opriessnig T, Fenaux M, Yu S, et al// –Vet Microbiol– 2004.– №98.–P. 209– 220.
13. Tischer I. Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence. /Tischer I, Peters D, Rasch R, Pociuli S//–Arch Virol–1987.–№96.–P. 39–57.

Summary

Severin R. V., Shchetinskiy I. M.,

**PATHOGENETIC FEATURES OF PORCINE CIRCOVIRUS INFECTION
TYPE 2 MODELED WITH THE USE OF UKRAINIAN CAUSATIVE AGENT
ISOLATE**

It was ascertained that Porcine circovirus infection in the form of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) declares itself, as a rule, in the period of active formation of enzootic nidi, whereas Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) declares itself in already formed stationary nidi of Porcine circovirus infection where acute situation with wasting syndrome is on the wane. Carried out pathogenic histological research testified neurotropy of our "Slobidskij" isolate PCV-2 which declares itself in the presence of Porcine parvovirus. The peculiarity of pathogenetic action of "Slobidskij" isolate PCV-2 is firstly, toxic meningoencephalitis type of cerebral affection of suckers and secondly, pulmonary and nephritic pathology.

Key words: *circovirus type 2, parvovirus, multisystemic wasting syndrome, Dermatitis and Nephropathy Syndrome, encephalitis, piglets.*

Рецензент – д.б.н., проф. Куртяк Б.М