

УДК 619:616.98:636.4

В.В. НЕДОСЕКОВ, доктор ветеринарних наук

А. В. ГАВРИЛЕНКО, аспірант*

І. Л. ФУРДА, аспірант*

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

ЦИРКОВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ СВИНЕЙ (ЕПІЗООТОЛОГІЯ, ЕТІОЛОГІЯ, МЕТОДИ ТА ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ)

Стаття присвячена вивченню епізоотології, етіології цирковірусної інфекції свиней (ЦВС) та детальному розгляду методів діагностики ЦВС на території України.

Ключові слова: цирковірусна інфекція свиней, збудник, поширення, діагностика.

Цирковірусна інфекція свиней – системне захворювання, яке залишається важливою ланкою у сукупності інфекційних факторів, що впливають на промислове виробництво свинини. Роль цирковірусу 2 свиней (ЦВС-2) є важливою також і в питаннях диференціальної діагностики хвороб свиней на фермах всього світу, при цьому точний діагноз визначає наступні дії у лікуванні та профілактиці. Цирковірус-асоційовані захворювання можуть мати як спорадичний, так і епізоотичний прояв та при цьому ускладнюватися однією чи кількома бактеріальними інфекціями, що перетворюється в серйозну проблему з боку діагностики та лікування.

Метою цієї статті є висвітлення природи ЦВС, його поширення на території України та методів діагностики.

Результати досліджень.

Збудник. ЦВС виявлений 1974 року як непатогенний контамінат культури клітин РК-15 [1]. Лише наприкінці 90-х років ХХ століття 2 тип вірусу був визнаний як патогенний і пов'язаний із синдромом мультисистемного виснаження поросят після відлучення [2] (1996), репродуктивними порушеннями [3] (1999), синдромом дерматиту та нефропатії [4] (2000), комплексом респіраторних хвороб свиней [5] (2003). Перші ознаки присутності ЦВС-2 у свиней були виявлені після дослідження проб сироваток крові, отриманих від забійних свиней 1969 року на забійних пунктах у Бельгії [6]. Також відмічали спорадичну присутність вірусу у фрагментах тканин, фіксованих формаліном і відібраних у період з 1970 по 1997 роки у Великобританії при проявах синдрому мультисистемного виснаження поросят після відлучення [7].

Непатогенний ЦВС-1 та патогенний ЦВС-2 – безоболонкові віруси, що відносяться до роду *Circovirus*, родини *Circoviridae* за характерну кільцеподібну структуру геному – закритої одноланцюгової молекули ДНК. При інфікуванні клітини ДНК переходить у дволанцюгову форму. Геном ЦВС-2 складається із 11 так званих ORF (OpenReadingFrames) протеїнів, проте протеїнова експресія описана лише у трьох ORF1, ORF2 і ORF3, при цьому у ORF2 – білок має ви-

ключне значення у формуванні капсиду вірусу та створенні протективних вакцин проти ЦВС2 [8].

Окрім того, що ЦВС поділяють на 1 та 2 типи, за результатами досліджень послідовності генів у ЦВС-2 штамів по всьому світу було виділено дві основних групи ЦВС-2а і ЦВС-2б [9], при цьому ЦВС-2а більш виражена генетична варіабельність. Є думка, що утворення даних типів відбулося приблизно 100 років тому, після чого обидва продовжували циркулювати в популяціях свиней і, здебільшого, конкурували між собою. Тобто кілька різних штамів вірусу можуть бути в одному макроорганізмі. Таким чином, утворення нових генотипів може бути результатом рекомбінації між штамми, що співіснують в одному організмі. Проте, ЦВС-2а згідно генетичної належності є більш характерним для території Північної Америки, а ЦВС-2б – для Європи. Третій генотип ЦВС-2с виділено із архівних матеріалів в Данії.

Профілактика ЦВС базується на антигенах ЦВС-2а, що підтверджується антигенною кросс-протекцією між ЦВС-2а і ЦВС-2б.

Вірус ЦВС-1 стійкий до дії рН та хлороформу, також вірус залишається стабільним при температурі 70°C протягом 15 хв. Біологічні та фізико-хімічні особливості ЦВС-2 детально не описані. Відомо, що вірулентність його суттєво знижується в кислому середовищі, проте вірус ЦВС-2 відновлює інфекційні властивості навіть після впливу рН 2. Вірус ЦВС-2 стійкий до дії температури при 56°C більше 1 години, 75°C 15 хв, це свідчить про те, що вірус здатен відновлювати свої інфекційні властивості навіть після впливу критичних умов навколишнього середовища [10,11].

ЦВС не становить загрози для здоров'я та життя людей.

Поширення. ЦВС значно поширені серед популяцій свиней, при цьому ЦВС-2 значно більш розповсюджений, ніж ЦВС-1 як у домашніх, так і у диких тварин. Всі види тварин, крім свиней, не є сприйнятливими до ЦВС2, а у гризунів вірус має здатність реплікуватися і поширюватися між особинами. Вірусні частинки знаходили лише у мишей та щурів, які проживали на свинофермі та інфікувались від свиней. У гризунів, які жили поза свиногосподарствами, ЦВС-2 не ідентифікували.

Виділення збудника в навколишнє середовище відбувається разом із секретами та екскретами. Зараження тварин відбувається в основному через ороназальний шлях, хоча часто інфікування проходить при осіменінні ураженою спермою, при цьому інфікується як свиноматка так і її плоди. Також часто зустрічається і перезараження поросят при канібалізмі та при сутичках після перегруповання та міксування інфікованих і здорових тварин.

Поширення ЦВС-2 у господарствах України. Дослідження поширення ЦВС-2 на території України проводились на базі лабораторії молекулярної діагностики Центру Сучасної Діагностики ТОВ НВП «Біо Тест Лабораторія». Матеріалом для досліджень був патологічний матеріал від свиногосподарств різних форм власності.

Протягом 2009-2012 років було досліджено матеріал від тварин з 109 господарств із 21 області України (крім Закарпатської, Сумської та Луганської) та АР Крим. Найбільшу кількість господарств було досліджено із Дніпропетровської, Київської, Черкаської та Донецької областей.

В результаті роботи було проведено 402 дослідження патологічного матеріалу (лімфатичні вузли, селезінка, легені) від свиней різного віку та технологічних груп на предмет наявності ЦВС-2, із них позитивних – 171, що склало 42,5 %.

При цьому дослідження проводили лише у тварин з клінічними проявами ЦВС (виснаження, кашель, іктеричність шкіри, дерматити).

Кількість позитивних зразків відносно до загальної кількості досліджуваних показана на рисунку.

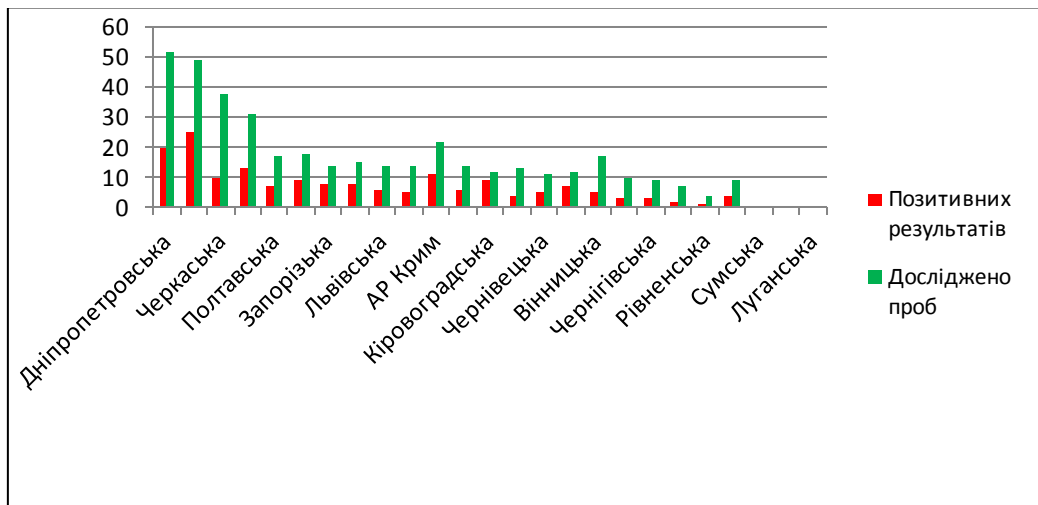


Рис. Поширеність ЦВС-2 серед свиноголів'я в областях України.

Діагностика. ЦВС-2 можна ідентифікувати як серед клінічно здорових свиней так і серед хворих. В зв'язку з цим пов'язані й різні підходи до постановки діагнозу.

Синдром системного виснаження поросят після відлучення:

1. Виснаження чи затримка росту окремих тварин, часто із задишкою та збільшенням пахвових лімфатичних вузлів іноді супроводжується іктеричністю.
2. Збільшення відсотку смертності поголів'я.
3. Від помірнього до важкого ураження лімфоїдної тканини [12].

Диференціація: аліментарна дистрофія, хронічні токсикози та мікотоксикози, гельмінтози, епіритрозоноз, хронічні пневмонії, РРСС.

Синдром дерматиту та нефропатії:

1. Геморагічно-некротичні ураження шкіри переважно на тазових кінцівках та в області промежини.
2. Збільшення та блідість нирок з масовими петехіальними крововиливами в кірковій зоні.
3. Наявність некротизуючих васкулітів та некротизуючих, фібринозних гломерулонефритів [13].

Диференціація: класична та африканська чума свиней, бешиха свиней, мінеральні отруєння.

Синдром репродуктивних порушень:

1. Аборти на пізніх стадіях супоросності або народження мертвих плодів, іноді із чітко вираженою гіпертрофією серця у плодів.

2. Присутність муміфікованих плодів при опоросі [14].

3. Фібринозні або/і некротизуючі міокардити у мертвонароджених плодів.

Диференціація: РРСС, парвовірусна інфекція свиней, легтоспіроз, хламідіоз, бешиха свиней, неповноцінність та незбалансованість раціону порісних свиноматок.

Респіраторний симптомокомплекс в окрему групу не виділяється, оскільки супроводжується вірусним та обов'язково бактеріальним коінфікуванням, при цьому клінічні симптоми будуть залежати від типу та кількості збудників [5, 15].

Лабораторні методи діагностики є вирішальними в постановці діагнозу на ЦВС. Виділяють кілька груп діагностичних підходів.

Серологічна діагностика.

Найбільш ефективно використовується серологічна діагностика для встановлення часу інфікування поголів'я, з цією метою проводять серологічний моніторинг різновікових груп стада. Проте серологічні методи дослідження не дають можливості встановити остаточний діагноз, оскільки сероконверсія спостерігається як серед ураженого так і серед здорового щодо ЦВС поголів'я свиней.

Серед серологічних методів описано такі як IFA, IPMA, ELISA та реакція вірус-нейтралізації. Щодо перших двох, то ці методи не є апаратними та мають певну частку суб'єктивізму, тому дають досить різні результати навіть при порівнянні результатів обох на одних і тих же пробах сироваток крові. Реакція вірус-нейтралізації описана в літературі, проте майже не використовується для діагностики. Найбільш розповсюдженим є метод ELISA, який широко використовується в комерційній діагностиці, завдяки своїй точності та можливості описати і відокремити IgG та IgM, що дає змогу встановити приблизний час інокуляції збудника та характер перебігу інфекційного процесу. Так, якщо кількість $IgM \geq IgG$, то це вказує на гострий перебіг захворювання (такі показники характерні для перших 21 днів після інокуляції збудника). Показники кількості $IgM < IgG$ показують активний перебіг інфекційного процесу (між 20 та 50-м днем після інокуляції), високі титри IgG при відсутності IgM вказують на хронічний інфекційний процес (здебільшого в період після 60 днів після інфікування) [16].

Методи молекулярної діагностики (ПЛР, гібридизація InSitu).

За допомогою даних методів можна виявити специфічну вірусну нуклеїнову кислоту в патологічному матеріалі чи біологічних рідинах [7, 17].

Використовують такі методи ПЛР:

1. Звичайна ПЛР – здійснюється звичайним методом ампліфікації.

2. Метод мультиплекс ПЛР – використовується для виявлення ДНК збудника в матеріалі, при цьому всі реакції проходять в одній пробірці.

3. Метод гніздової ПЛР – дає змогу виявити навіть мізерні кількості ДНК збудника. В даному методі використовують два послідовні етапи ампліфікації.

4. Метод мультиплекс-гніздової ПЛР – поєднання двох попередніх методів, що дає змогу отримання більш якісного результату.

5. Метод кількісної ПЛР або ж ПЛР в реальному часі – контролює кількість продуктів реакції в кожному її циклі. За допомогою даного методу можна встановити кількість вихідного матеріалу.

6. Метод зворотної транскрипції – виявляє матричну РНК вірусу, яка присутня при реплікації ЦВС-2.

Гібридизація InSitu дає змогу виявити мічений фрагмент ДНК вірусу на частинах тканин. Даний метод активно використовують для ідентифікації ДНК кількох вірусних збудників в зрізах тканин [18].

Імуногістохімічний метод діагностики.

Використовують моно- та поліклональні антитіла для виявлення антигену ЦВС-2 в фіксованих формаліном та залитих парафіном гістопрепаратах. Цей метод дає змогу візуально оцінити присутність вірусу в тканинах, проте порівняно з методом InSitu він є менш точним, особливо при використанні поліклональних антитіл [19].

Культивування вірусу.

Відбувається на культурах клітин нирок свині РК-15, при цьому цитопатичний ефект відсутній. Даний метод не знайшов широкого використання в зв'язку зі складністю культивування, довготривалістю у часі, можливістю обсіменіння вторинною мікрофлорою та автолізу культури клітин [20].

Висновок.

Збудник ЦВС-2 був виділений у 90-х роках ХХ-го століття після встановлення його прямого відношення до розвитку цирковірус-асоційованих інфекцій. На сьогодні є багато методів діагностики ЦВС-2, в Україні ж використовують методи серологічних досліджень (ELISA), ПЛР та імуногістохімічні методи. ЦВС-2 широко розповсюджений на території України, при дослідженні тварин з клінічними проявами ЦВС, виявлено 42,5 % позитивних проб.

Список використаної літератури:

1. Tischer I. Characterization of papovavirus and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines / I. Tischer, R. Rasch, G. Tochtermann // Zentralbl. Bakteriол. J. – 1974. – №226. – P. 153–167.
2. Allan G. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe / G. Allan, F. McNeilly, S. Kennedy [et al] // Vet. Diagn. Invest. J. – 1998. – № 10. – P. 3–10.
3. Johnson C. Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2 / C. Johnson, H. Joo, K. Direksin [et al] // Vet. Diagn. Invest. J. – 2002. – №14. – P. 507–512.
4. Wellenberg G. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study / G. Wellenberg, N. Stockhofe-Zurwieden, M. De Jong [et al] // Vet. Microbiol. – 2004. – №99. – P. 203–214.
5. Ellis J. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome / J. Ellis, L. Hassard, E. Clark [et al] // Can. Vet. J. – 1998. – №39. – P. 44–51.
6. Sanchez R. Proceeding of ssDNA / R. Sanchez, H. Nauwynck, M. Pensaert // Materials of the conference: Viruses, Plants, Birds, Pigs, and Primates. – Sant-Mailo, France, 2001. – P. 122.

7. Grierson S. Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK / S. Grierson, P. King, T. Sandvik [et al] // *Arch. Virol.* – 2004. – № 149. – P. 1171–1183.

8. Todd D. Circoviridae. In: *Ball virus taxonomy* / D. Todd, M. Bendinelli, P. Biagini [et al] // Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. – Elsevier Academic Press. – San Diego, CA. – 2005. – P. 327–334.

9. Olvera A. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: phylogeny and clonality / A. Olvera, M. Cortey, J. Segale's // *Virology.* – 2007. – № 357. – P. 175–185.

10. Ellis J. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome // J. Ellis, L. Hassard, E. Clark [et al] // *Can. Vet. J.* – 1998. – № 39. – P. 44–51.

11. Welch J. Resistance of porcine circovirus and chicken anemia virus to virus inactivation procedures used for blood products / J. Welch, C. Bienek, E. Gomperts [et al] // *Transfusion.* – 2006. – № 46. – P. 1951–1958.

12. Magar R. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study / R. Magar, R. Larochelle, S. Thibault [et al] // *J. Comp. Pathol.* – 2000. – № 123. – P. 258–269.

13. Rosell C. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome / C. Rosell, J. Segale's, J. Ramos-Vara [et al] // *Vet. Rec.* – 2000. – № 146. – P. 40–43.

14. O'Connor B. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit / B. O'Connor, H. Gauvreau, K. West [et al] // *Can. Vet. J.* – 2001. – № 42. – P. 551–553.

15. Kim J. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex / J. Kim, H. Chung, C. Chae // *Vet. J.* – 2003. – № 166. – P. 251–256.

16. Segale's J. Animal Circoviruses and Associated Disease / J. Segale's, J. Rodriguez, A. Resendes [et al] // *Proc. Intern. Conf.* – 2005. – P. 61.

17. Shibata I. PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases / I. Shibata, Y. Okuda, S. Yazawa [et al] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2003. – № 65. – P. 405–408.

18. McNeilly F. A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / F. McNeilly, S. Kennedy, D. Moffett [et al] // *J. Virol. Methods.* – 1999. – № 80. – P. 123–128.

19. Sorden S. Development of a polyclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of type 2 porcine circovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue / S. Sorden, P. Harms, P. Nawagitgul [et al] // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 1999. – № 11. – P. 528–530.

20. Tischer I. Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence / I. Tischer, D. Peters, R. Rasch [et al] // *Arch. Virol.* – 1987. – № 96. – P. 39–57.

ЦИРКОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ СВИНЕЙ (ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЭТИОЛОГИЯ, МЕТОДЫ И ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ) / Недосеков В.В., Гавриленко А.В., Фурда И.Л.

Статья посвящена изучению эпизоотологии, этиологии цирковиральной инфекции свиней (ЦВС) и рассмотрению методов диагностики ЦВС на территории Украины. В течение 2009-2012 годов было исследовано материал от животных из 109 хозяйств с 21 области Украины и АР Крым.

В результате работы было проведено 402 исследования патологического материала (лимфатические узлы, селезенка, легкие) от свиней разного возраста и технологических групп на предмет наличия ЦВС-2, из них положительных 171, что составило 42,5 %.

В мире существует много методов диагностики ЦВС-2. В Украине используют методы серологических исследований (в частности ELISA), ПЦР обычная, ПЦР в реальном времени и иммуногистохимические методы.

Ключевые слова: цирковиральная инфекция свиней, возбудитель, распространение, диагностика.

PORCINE CIRCOVIRUS INFECTION (EPIZOOTOLOGY, ETIOLOGY, DIAGNOSTIC METHODS, AND ESPECIALLY ON THE TERRITORY OF UKRAINE) / V. V. Nedosekov, A. V. Havrylenko, I. L. Furda

Article examines the epizootiology, etiology of porcine circovirus infection (PCV) and consideration of diagnostic PCV in Ukraine. During 2009 – 2012 was studied material from animals of 109 households from 21 regions of Ukraine and Crimea.

As a result, the work was carried out 402 studies of pathological material (lymph nodes, spleen, lungs) from pigs of different ages and technology groups for the presence of PCV2. There are 171 research are positive, representing 42,5 %.

In the world there are many methods of diagnosis PCV2. In Ukraine the methods used are: serological tests (ELISA), regular PCR, real-time PCR and immunohistochemical methods.

Keywords: porcine circovirus infection, pathogen, distribution, diagnosis.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук І. М. Полупан

Рукопис надійшов 18.02.2014 року.