

Раев С.А.¹,
Южаков А.Г.¹,
Алексеев К.П.¹,
Аноятбеков М.¹,
Верховский О.А.²,
Алипер Т.И.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

² АНО Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных, Москва, Россия

109428, г. Москва, Рязанский проспект, д. 24, корп. 1

Ключевые слова: мониторинг, цирковироз свиней 2 типа, IgG, IgM, распространенность, ДНК.

Для цитирования: Раев С.А., Южаков А.Г., Алексеев К.П., Аноятбеков М., Верховский О.А., Алипер Т.И. Мониторинг цирковирозных болезней свиней в условиях промышленных свинокомплексов // *Аграрная наука*. 2019; (11–12): 30–32.

DOI: 10.32634/0869-8155-2019-333-10-30-32

Raev S.A.¹,
Yushakov A.G.¹,
Alekseev K.P.¹,
Anoyatbekov M.¹,
Verhovskij O.A.²,
Aliper T.I.¹

¹ Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (FSC VIEV) 24, Ryazanskiy prospect, bldg. 1, Moscow, 109428, Russia

² Independent Non-Profit Organization "Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases", Moscow, Russia

Key words: monitoring, porcine circovirus type 2, IgG, IgM, prevalence, DNA.

For citation: Raev S.A., Yushakov A.G., Alekseev K.P., Anoyatbekov M., Verhovskij O.A., Aliper T.I. Porcine circovirus associated diseases diagnosis at industrial pig farm conditions // *Agrarian Science*. 2019; (11–12): 30–32. (In Russ.)

DOI: 10.32634/0869-8155-2019-333-10-30-32

Мониторинг цирковирозных болезней свиней в условиях промышленных свинокомплексов

Реферат

Цирковирозные болезни свиней (ЦВБС) – одно из экономически значимых заболеваний свиней. Ни одна из форм ЦВБС не имеет специфических клинических симптомов. Возбудитель заболевания – цирковироз свиней 2-го типа относится к роду *Circovirus* семейства *Circoviridae*. На данный момент ЦВБС-2 повсеместно распространен по всему миру. Вакцинация против ЦВБС рутинно применяется в большинстве свинокомплексов. Применение вакцин против ЦВБС не приводит к формированию стерильного иммунитета. Эти обстоятельства делают необходимым проведение диагностических исследований с использованием материала от животных различных возрастов/технологических групп. В статье представлены результаты исследований по использованию поперечного метода мониторинговых исследований по диагностике ЦВБС. Применение наборов ИФА, направленных на выявление иммуноглобулинов IgG/IgM-класса, а также полимеразной цепной реакции для выявления участка ДНК возбудителя при исследовании сывороток крови позволили установить существенные различия в серологическом и вирусологическом профилях исследованных свиноводческих ферм. Установлено, что уровень виремии у различных технологических групп колеблется в интервале от 0 до 40%; уровень серопревалентности – от 0 до 100% и от 10 до 50% для специфических IgG и IgM, соответственно. Использование ИФА, направленного на выявление иммуноглобулинов IgM-класса к ЦВБС-2 позволяет значительно раньше выявить наличие контакта животных с вирусом (или вакцинации) по сравнению с выявлением иммуноглобулинов класса IgG. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения научно-обоснованного подхода при определении ведущего патогена при развитии системных заболеваний, таких как комплекс респираторных болезней свиней (КРБС). Кроме того, мониторинговые исследования могут быть полезными при изучении эффективности проводимых мер борьбы и специфической профилактики ЦВБС.

Porcine circovirus associated diseases diagnosis at industrial pig farm conditions

ABSTRACT

Porcine circovirus associated diseases (PCVAD) – one of the most economically significant diseases of swine. No one of the PCVAD has any specific clinical symptoms. Causative agent is a porcine circovirus type 2 which belongs to *Circovirus* genus *Circoviridae* family. Nowadays PCV-2 is ubiquitous. Vaccination against PCVAD is widely using in most of swine farms. Vaccine application against PCVAD does not elicit development of sterile immunity. These fact is making conduction od diagnostic investigations with using of materials from animals of different ages/technological groups are necessary. The article is describing results of investigation about PCVAD diagnosis with applying of longitudinal method of monitoring. Application of the ELISA test-kits for detection PCV-2 specific immunoglobulins IgG/IgM and polymerase chain reaction for the DNA of PCV-2 detection in blood serum allowed to set significant differences in serology and virology profile in examined farms. It was founded that viremia level in different technological groups is ranged from 0 to 40%; seroprevalence level – from 0 to 100 and from 10 to 50% for specific IgG and IgM, respectively. Application of ELISA test-kit for detection of immunoglobulins IgM to PCV-2 allows to detect a contact animals with PCV-2 (or vaccination) earlier than in case with immunoglobulins IgG. The obtained data reveals possibility of application scientific-based approach in detection of major pathogen in case of systemic disease development such as porcine respiratory syndrome complex (PRDC). In addition, monitoring investigations might be helpful in case of study of a control measures and specific prevention of PCVAD.

Введение

Комплекс заболеваний, возбудителем которых является цирковир свиней 2-го типа (ЦВС-2) — цирковирусные болезни свиней (ЦВБС) остается одним из наиболее экономически значимых проблем промышленного свиноводства. ЦВБС включают следующие заболевания: синдром послеотъемного мультисистемного истощения (СПМИ), синдром дерматита и нефропатии свиней (СДНС), респираторные и репродуктивные нарушения свиней, а также субклиническую форму инфекции [8].

Возбудитель ЦВБС — цирковир свиней 2-го типа (ЦВС-2) относится к роду *Circovirus* семейства *Circoviridae*. Вирионы ЦВС-2 представляют икосаэдрические частицы (32 капсомера, построенные из капсидного белка размером 233 аминокислоты) диаметром 16–21 нм. Вирус распространен по всему миру, включая Россию [1, 2].

Ключевой особенностью инфекционного процесса, вызываемого ЦВС-2, является возможность его хронического течения. Также стоит учитывать, что в большей части свинок комплексов рутинно применяется вакцинация против ЦВБС. Указанные обстоятельства накладывают значительный отпечаток на интерпретацию результатов иммуноферментного анализа (ИФА), который по-прежнему остается одним из наиболее используемых методов лабораторной диагностики ЦВБС. Другим методом является полимеразная цепная реакция (ПЦР), материалом для исследования которой чаще всего является патологический материал от павших или вынужденно убитых животных. Стоит учитывать, что при субклинической форме инфекции ДНК ЦВС-2 может быть обнаружена в патологическом материале, но это не будет свидетельствовать о роли данного возбудителя в развитии патологии. Напротив, выявление вируса в крови (виремия) и его количество коррелируют с наличием патологии на микро- и макроскопическом уровне. Для комплексной оценки хозяйства в отношении ЦВБС необходимо исследование материала от животных различных половозрастных групп с применением серологических и молекулярно-биологических методов исследования [3, 4, 7].

Целью данного исследования было проведение мониторинговых исследований, направленных на определение серологического и вирусологического статуса в различных свиноводческих фермах, расположенных на территории России.

Методика

Для проведения исследований были выбраны 3 свинок комплекса, расположенных на территории Белгородской области, а также в Восточной Сибири. Все исследованные хозяйства являются неблагополучными по респираторной патологии. Результаты лабораторных исследований показали наличие ДНК ЦВС-2

в образцах патологического материала, полученного от павших или вынужденно убитых животных различного пола и возраста. Во всех хозяйствах рутинно применяют однократную схему вакцинации против ЦВБС коммерческими вакцинами.

Для проведения мониторинговых исследований использовался метод поперечного отбора проб, при котором отбор материала (кровь) проводился от поросят, начиная от периода подсоса до поздних сроков откорма ($n = 10$ для каждой возрастной группы).

Для обнаружения ДНК ЦВС-2, а также IgG и IgM ЦВС-2 были использованы «тест-система для обнаружения цирковируса свиней II типа методом ПЦР в реальном времени», набор для выявления антител к ЦВС-2 методом ИФА «Цирко-серотест», а также набор для выявления IgM к ЦВС-2 методом ИФА «ЦВС-IgM серотест», соответственно все — ООО «Ветбиохим», Россия. Постановка, учет, а также интерпретация результатов выполнялись согласно инструкции производителя. Всего было исследовано 180 проб различными методами.

Результаты

Изучение серологического и вирусологического профиля разновозрастных групп поросят позволил добиться следующих результатов.

Как видно из данных, представленных на рисунках 1–3, между динамикой изменения серологического статуса животных в исследованных хозяйствах есть значительные отличия. В возрасте 14–19 дней в хозяйствах

Рис. 1. Мониторинговые исследования в отношении ЦВС-2 (Хозяйство 1)

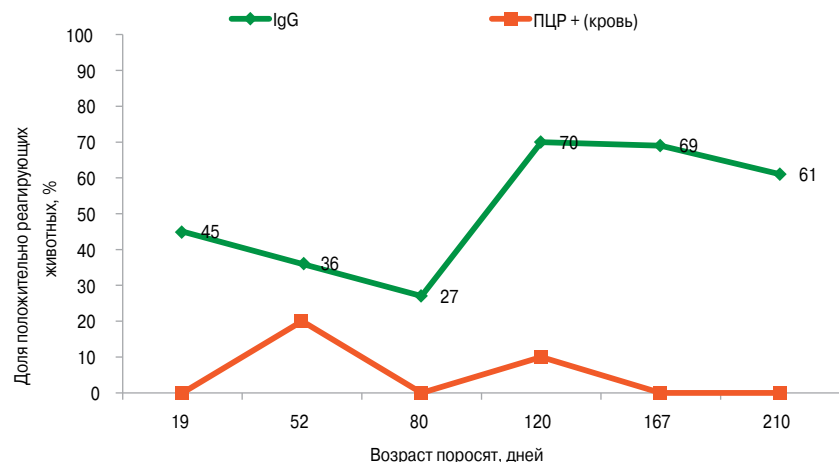
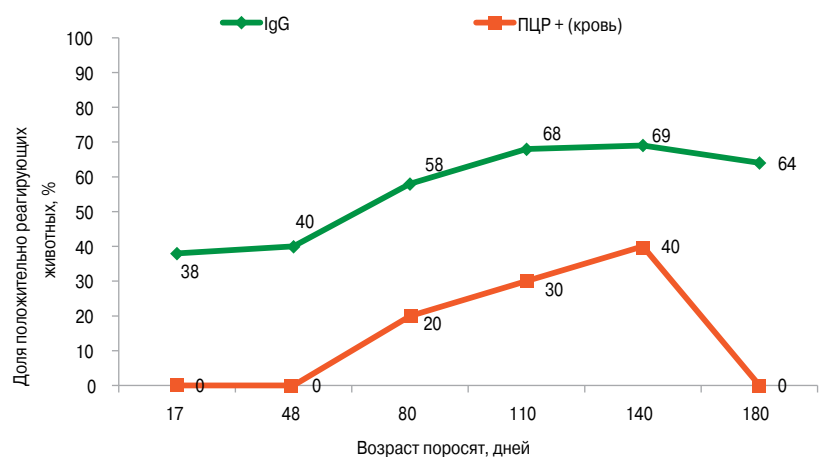


Рис. 2. Мониторинговые исследования в отношении ЦВС-2 (Хозяйство 2)



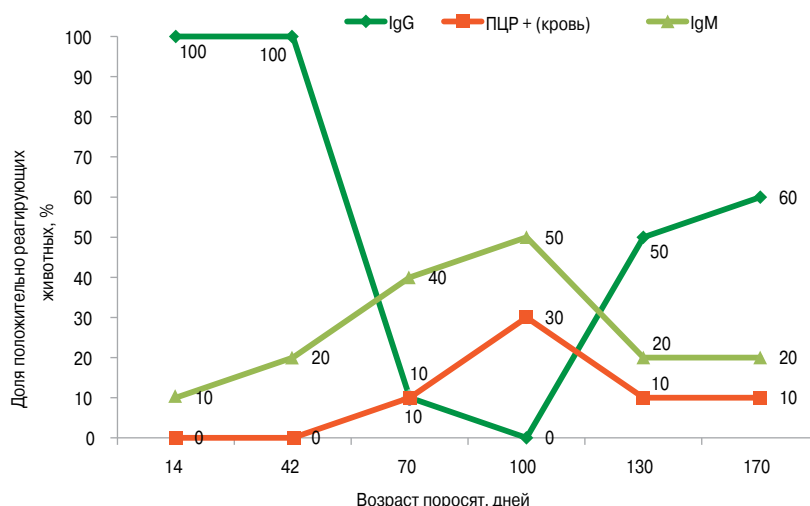
№ 1 и 2 положительно реагируют на ЦВС-2 38–45% животных, соответственно. В случае хозяйства № 2 в дальнейшем наблюдается лишь увеличение доли животных, у которых выявляются антитела к ЦВС-2, в то время как в хозяйстве № 1, напротив, до 80-дневного возраста наблюдается лишь уменьшение доли таких животных, после чего происходит относительно резкий сдвиг серологического статуса — с 27 до 70% положительно реагирующих животных. Принципиальные отличия от этих данных выявлены в хозяйстве № 3: у всех исследованных поросят 14- и 42-дневного возраста были выявлены специфические IgG. У 70-дневных поросят в этом хозяйстве антитела выявлялись лишь в 10% случаев. У особей 100-дневного возраста был определен серонегативный статус, после чего была зафиксирована сероконверсия: начиная со 130-дневного возраста не менее половины исследованных животных данного хозяйства вновь положительно реагируют на ЦВС-2.

Прояснить данные иммунологических исследований позволяют результаты ПЦР-исследований. Так, в хозяйстве № 1 максимальная доля животных с вирусемией была выявлена на этапе дорастивания (в возрасте 52 дней), затем доля таких животных снижалась. Соответственно, можно сделать заключение о том, что выявленные в данном хозяйстве у поросят 120-дневного возраста специфические антитела являются постинфекционными. Для хозяйства № 2 установлено, что пик вирусемии приходится на период откорма. С учетом того, что с 17-го до 40-го дня жизни поросят падения уровня антител не наблюдается, то можно сделать заключение, что антитела к ЦВС-2, выявляемые у 48–180-дневных поросят, имеют комплексное, то есть постинфекционное и поствакцинальное происхождение. В хозяйстве № 3 вирусемия впервые зафиксирована на этапе дорастивания, однако ее максимальный уровень (30%) приходится на этап откорма, причем ДНК ЦВС-2 обнаруживается, хоть и на минимальном уровне, на всем протяжении этого технологического этапа. Из этих данных можно сделать вывод, что IgG к ЦВС-2, выявленные у поросят 130- и 170-дневного возраста, являются постинфекционными. Существенно дополняют общую картину в данном хозяйстве исследования, направленные на выявление специфических иммуноглобулинов класса IgM: полученные данные во многом сходны с результатами ПЦР (коэффициент корреляции Пирсона 0,85).

Выводы

Анализ полученных данных свидетельствуют о том, что для определения наличия вирусемии необходимо проведение отбора проб у разновозрастных групп животных, поскольку их вирусологический статус может значи-

Рис. 3. Мониторинговые исследования в отношении ЦВС-2 (Хозяйство 3)



тельно отличаться. Например, в хозяйстве № 1 у поросят 19-, 80-, 167- и 200-дневного возраста ДНК ЦВС-2 в крови выявлена не была. Динамическое изучение серологического профиля в хозяйстве может способствовать оптимизации схемы специфической профилактики ЦВС. Так, в хозяйстве № 1 у поросят на стадии отъема зафиксирован высокий уровень колостральных антител, а последующая динамика изменения их концентрации свидетельствует об отсутствии сероконверсии. В таких случаях разумно проводить вакцинацию поросят не в 3-, а 6- или 8-недельном возрасте [5, 6].

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод о том, что изучение серологического статуса совместно с ПЦР-исследованиями животных позволяет наиболее адекватно оценить динамику инфекционного процесса в хозяйстве.

Проведенные нами исследования позволили определить динамику ЦВС-2 инфекции в условиях промышленных свинокомплексов, в которых применяются вакцины против ЦВС. Результаты применения комплекса методов лабораторной диагностики — ИФА (IgG/IgM) и ПЦР — для исследования образцов сыворотки крови, полученных от поросят различных возрастных групп, свидетельствуют о различных серологических и вирусологических профилях исследованных свиноводческих ферм. Полученные данные могут позволить обоснованно подходить к формированию мер борьбы и специфической профилактики ЦВС.

Вклад авторов. Коллектив данных авторов разработали эксперимент, проанализировали данные и написали статью. Все авторы прочитали и одобрили заключительный вариант рукописи.

Конфликтные интересы. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Спонсоры не участвовали в составлении плана исследований, сборе данных, их анализе и в подготовке публикации.

Работа проводилась в рамках выполнения государственного задания по программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук по теме № 0578-2019-0010.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Булгаков А.Д., Гребенникова Т.В., Южаков А.Г. [и др.] Молекулярно-генетический анализ геномов вирусов репродуктивного и респираторного синдрома свиней и цирковируса свиней второго типа, циркулирующих на территории Российской Федерации // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2014. 4:29 – 33.
2. Орлянкин Б.Г. Цирковирусные болезни свиней: распространение, диагностика и специфическая профилактика // Ветеринария. 2013; 8:3 – 9.
3. Carasova P., Celer V., Takacova K. [et al.] The levels of PCV2 specific antibodies and viremia in pigs // Res. in Vet. Science. 2007. 83:274–278.
4. Kristensen C.S., Hjulsgaard C.K., Larsen L.E. A two-year follow-up study of the PCV2 status of a Danish pig herd that was initially assumed to be PCV2-free // Porcine Health Manag. 2015. 1: 1–5.

5. Martelli P., Saleri R., Ferrarini G. [et al.] Impact of maternally derived immunity on piglets' immune response and protection against porcine circovirus type 2 (PCV2) after vaccination against PCV2 at different age // Vet Res BMC. 2016. 12:77

6. Oliver-Ferrando S., Segalés J., López-Soria S., et al. Evaluation of natural porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection and seroconversion dynamics in piglets vaccinated at different ages. Vet. Res. 2016; 47:121

7. Opriessnig T., Prickett J., Madson D. [et al.] Porcine circovirus type 2 (PCV2)-infection and re-inoculation with homologous or heterologous strains: virological, serological, pathological and clinical effects in growing pigs // Vet. Res. 2010. 41:31 – 44.

8. Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis // Virus Res. 2012. 164:10 – 19.