

УДК 619:616.98:579

Обзор по цирковирусной инфекции свиней

В.М. ПОПОВА, доктор биолог. наук, вед. научный сотрудник отдела молекулярной биологии и вирусологии, О.А. БОГОМОЛОВА, кандидат биолог. наук, ст. научный сотрудник отдела иммунологии, Е.В. МАРКОВА, кандидат с.-х. наук, ст. научный сотрудник отдела молекулярной биологии и вирусологии, Ю.Н. ФЕДОРОВ, член-корреспондент РАН, гл. научный сотрудник, Л.С. ЛЮЛЬКОВА, доктор биолог. наук, вед. научный сотрудник отдела обеспечения качества лекарственных средств, ФГБНУ ВНИТИБП

В кратком обзоре обобщены данные по цирковирусной инфекции свиней. Приведены сведения о современной эпизоотической обстановке за рубежом и в Российской Федерации. Подытожена информация об особенностях возбудителя заболевания, о клинических и патологоанатомических проявлениях, дана характеристика вирусных белков и оценка иммунитета.

Ключевые слова: цирковирус, вакцинация, генотип.

Swine circovirus infection

V.M. POPOVA, doctor of biological sciences, leading researcher of department of molecular biology and virology, O.A. BOGOMOLOVA, candidate of biological sciences, senior researcher of department of immunology, E.V. MARKOVA, candidate of agricultural sciences, senior researcher of department of molecular biology and virology, Yu.N. FEDOROV, corresponding member of RAS, chief researcher, L.S. LYULKOVA, doctor of biological sciences, leading researcher of drug quality assurance department, FSBI VNITIBP
This brief review summarizes data on porcine circovirus infection. The article provides information about the current epizootic situation abroad and in the Russian Federation. Data on the characteristics of the pathogen, clinical and pathoanatomic manifestations are summarized, the characteristic of viral proteins and the assessment of immunity are given.

Key words: circovirus, vaccine, genotype.

DOI: 10.37925/0039-713X-2020-3-8-10

Современное животноводство сталкивается с различными заболеваниями. Так, с развитием свиноводства в последнее время на территории России широкое распространение получили ранее незарегистрированные инфекции, связанные с цирковирусами [1, 2].

Группой риска для данной инфекции являются поросята, находящиеся на доращивании после отъема. Поэтому изучение эпизоотологического состояния синдрома мультисистемного истощения отлученных поросят (СМВП; PMWS) актуально [3–5].

С цирковирусом 2-го типа (ЦВС-2) связывают потенциально близкие заболевания свиней – синдром свиного дерматита и нефропатии, пролиферирующую и некротическую пневмонию, врожденный тремор, перинатальный миокардит, репродуктивную несостоятельность.

В США по степени распространения эта инфекция стоит на втором месте, а в Евросоюзе убытки из-за ЦВИС составляют примерно 600 млн евро в год. Экономический ущерб от болезней, ассоциированных с ЦВИС, является значительным из-за недополучения продукции и высокой смертности

поросят после отъема [3, 5–8, 16]. Цирковирус свиней 1-го типа (ЦВС-1) впервые был обнаружен I. Tischer, N. Rascy и G. Tochtermann в 1974 году и охарактеризован как нецитопатогенный контаминант перевиваемой линии клеток почек поросят PK-15 [1, 2]. А в 1982 году группа исследователей выявила цирковирус, который генетически отличался от указанных контаминантов клеточных культур (Tischer I. et. al., 1982), что стало основанием для разделения цирковируса свиней на два генотипа – ЦВС-1 (контаминантов клеточных культур) и ЦВС-2 (вирус, выделенный от свиней). Исследованиями архивных образцов сывороток крови на наличие ЦВС-2 было отслежено до 1969 года в Бельгии, в 1970 году – в Великобритании, до 1973-го – в Ирландии, до 1985 года – в Канаде и Испании [8, 16]. Архивные образцы сывороток крови бельгийских свиней (из отобранных в 1969, 1975, 2000 годах) в непрямом иммунопероксидажном методе (IPMA) были положительными на антитела против ЦВС-2, однако серопозитивность не была связана с какой-либо патологией [16]. Первые сведения о патогенном

цирковирусе свиней появились в 1991 году, когда в Канаде было обнаружено новое заболевание – синдром мультисистемного истощения отъемышей (СМИО) (Allan G.M., 1993, 1994; Ellis J., 1993, 1991; Krakowka S., 1993). Истощение, одышку, желтушность кожи наблюдали у поросят 6–14-недельного возраста. Новый вирус охарактеризовали как цирковирус свиней 2-го типа (ЦВС-2) [5, 9].

Патогенный цирковирус свиней был выделен в 1998 году из тканей отлученных поросят с использованием свободной от загрязнения ЦВС-1 перевиваемой клеточной линии PK-15 (Ellis J., 1998; G.M. Allan, 1998). Антигенные и генетические различия нового изолированного ЦВС от ЦВС-1 доказали G.M. Allan, B. Meehan, D. Todd, F. McNeilly и назвали цирковирусом свиней 2-го типа [19]. Clark выявил 2-й тип цирковируса у поросят, больных нефропатическим синдромом (Porcine Dermatitis Nephropathy Syndrome, PDNS), проявляющийся при дерматите молодняка в процессе доращивания, расстройстве обмена веществ, связанных с поражением почек и сердца подсосных поросят и свиней [16]. Штаммы,

выделенные у свиней с проявлениями синдромов истощения (PMWS) и кожно-почечного (PDNS), размножались значительно быстрее и активнее штаммов, обнаруженных у свиней с репродуктивными расстройствами. В 1999–2000 годах рядом исследователей была воспроизведена тяжелая клиническая форма PMWS на большинстве свиней, зараженных смешанной инфекцией ЦВС-2 и ПВС. Франция одна из первых столкнулась с проблемой, связанной с PMWS, а в 1999 году это стало самой большой трудностью для свиноферм в ЕС. Болезнь распространилась в Нидерландах и Польше. Цирковирусная инфекция зарегистрирована в странах Северной и Южной Америки, Европы и Азии с развитым промышленным свиноводством [16, 19].

В 2006 году была разработана первая вакцина против ЦВС-2, которая в США снизила экономические потери среди свиноголовья, пораженного цирковирусной инфекцией [5, 16]. За последнее время количество зарегистрированных в мире различных вакцин против этой болезни возросло [16].

■ Особенности возбудителя

Возбудитель относится к ДНК-вирусу по классификации – роду *Circovirus* семьи *Circoviridae* [11, 13, 16]. Он выделен по таксономии вирусов в отдельную семью, которая содержит вирус голубей (*columbid circovirus*), канареек (*canary circovirus*), гусей и уток (*goose and duck circovirus*), крупного рогатого скота (*bovine circovirus*) и вирус болезни клюва и оперения попугаев (*beak and feather disease virus*, ВХДОП) [5, 11, 16]. К семье *Circoviridae* относится род *Gyrovirus*, представителем которого является вирус анемии цыплят (*chicken anemia virus*) и род *Anellovirus*, содержащий ТТ-вирус (*torque teno virus*). Цирковирус обладает моногостальностью, лимфотропностью. Важной характеристикой цирковируса животных и птицы является их иммуносупрессивность, которая при поражении определенных клеток иммунной системы вызывает ее общее угнетение [16]. Установлено, что, согласно филогенетическому анализу ЦВС-1 цирковируса птицы и гемини- и нановирусов растений, существует тесная генетическая связь ЦВС-1 с цирковирусной инфекцией попугаобразных (*psittacine beak and feather disease*, PBFД) и, соответственно, его промежуточным положением между

гемини- и нановирусами растений [16]. Есть предположение, что ЦВС-1 и PBFД могут происходить от растительного нановируса, который приобрел инфекционную активность у позвоночных животных путем рекомбинации с РНК-содержащим вирусом [16].

Размер вириона ЦВС-2 составляет 15–24 нм в диаметре, имеет икосаэдрический тип симметрии (Малоголовкин С.А., 2004), капсид состоит из 32 капсомеров, липидов и углеводов в составе вирионов не обнаружено. Цирковирус устойчив к растворителям липидов, различным детергентам и дезинфицирующим веществам, но разрушается при температуре +60°C и более в течение 30 минут [16]. Плавающая плотность вирионов вируса в CsCl – 1,33–1,36 г/см³.

Сам геном цирковируса представляет собой односпиральную кольцевую ковалентно замкнутую молекулу минус – ДНК длиной 1760–2319 нуклеотидов [16]. В ядре происходит репликация вирусной ДНК после завершения стадии митоза, зависящая от белков клетки-хозяина [16, 18]. Цирковирусы свиней (PCV1 и PCV2) различаются по генетическим и антигенным характеристикам, но организация их генома одинакова. Так, геномная односпиральная кольцевая ДНК имеет две основные из 11 предположительно открытых рамок считывания (ORFs) – ORF1 и ORF2. Первая содержит 942 нуклеотида и кодирует два протеина, обеспечивающих репликацию вирусной ДНК [16]. Другая – 2699 нуклеотидов и кодирует главный капсидный белок с 233 аминокислотами, которые являются протективными антигенами и единственным структурным полипептидом вируса [16]. ORF2 большей вариабельностью по ORF1 и ORF3. ORF3, в свою очередь, имеет молекулярную массу 11,8 кДа. Этот участок генома, отвечающий за патогенез инфекции у мышей, был недавно определен [16]. Полипептид с молекулярной массой 36–50 кДа был обнаружен в вирионах цирковируса свиней и цыплят. Значительный уровень генетической вариабельности изолятов возбудителя отмечен в различных географических регионах [16]. С 2007 года существует классификационная система, в которой изоляты и штаммы ЦВС-2 разделены на два генотипа (1-й и 2-й) и восемь кластеров, при этом генетическое разнообразие возбудителя подтверждается антигенной неоднородностью

его главного капсидного протеина [16]. Однако это разнообразие касается лишь иммунологических характеристик возбудителя: до сих пор не установлена связь между последовательностью гена капсидного протеина и патогенностью штаммов ЦВС-2 [16]. Штамм ЦВС-2, происходивший от свиней, пораженных PMWS, по вирулентности значительно отличается от изолята, выделенного у субклинически инфицированного животного из этого же эпизоотического очага цирковирусной инфекции свиней.

В 2006 году при серологических исследованиях установлено различие при клиническом проявлении инфекции между разными изолятами ЦВС-2 на поросятах, свободных от патогенной микрофлоры [16]. Бельгийские ученые на основе реакции нейтрализации с использованием моноклональных антител показали антигенное разнообразие протективного антигена штаммов ЦВС-2 различного происхождения [16]. Исследовано семь штаммов, принадлежащих к обоим генотипам возбудителя, которые вызывали различные синдромы ЦВИС в странах Европы и Америки – PMWS (штамм 2-го генотипа Stoon-1010 и штаммы 1-го генотипа 48285, 1206, VC2002), кожно-почечный (штамм 1-го генотипа ЦВС-2 1147), а также аборт (штаммы 2-го генотипа 1121 и 1103). 11 видов моноклональных антител против протективного антигена штамма Stoon-1010 на 51–98% нейтрализовали штаммы Stoon-1010 и 48285, на 30–61% – штаммы 1206 и 1103 и почти не нейтрализовали штаммы 1206, VC2002, 1147 и 1121. Сочетание иммунопероксидазного метода на основе использования ряда моноклональных антител с секвенированием гена капсидного протеина установило явление генетической неоднородности штаммов 1206 и VC2002: в составе их матричных расщеплений найдена субпопуляция вирионов 1-го генотипа (до 99%) и 2-го генотипа (до 1%) ЦВС-2. Антигенная изменчивость ЦВС-2, его биологические свойства существенно влияют на эпизоотические и биотехнологические подходы в регуляции ЦВИС [5].

■ Характеристика вирусных белков

Существует ряд расхождений в исследованиях: одни авторы определили четыре (Allan G.M., 1996; Buhk H.J. et al., 1988; Huedepohl B., Thacker B.,

1998; Mankertz J. et al., 1997), другие (Mankertz A. et al., 1993; Meehan B.M. et al., 1997) – пять минорных, частично перекрывают ORF, с потенциалом кодирования белков более 5 кДа. ORF1 кодирует белок, который участвует в репликации ЦВИС (Mankertz A. et al., 1998). Клонирование гена ORF1 катализирует репликацию плазмиды *por1*, которая имеет область начала репликации ДНК-цирковируса свиней, но сама не реплицируется в незараженных клетках почки поросенка. Очевидно, что этот белок играет существенную роль в репликации ЦВИС [17]. ORF2 (цирковирус свиней 2-го типа) имеет длину 600 нуклеотидов и кодирует капсидный белок с 233 аминокислотами (Nawagitgul P. et al., 2000). ORF2 кодирует главный капсид белка и содержит консервативную последовательность основных аминокислот на N-конце, похожую на последовательность основного структурного белка вируса анемии цыплят. Основной структурный белок ЦВС-2 с молекулярной массой 30 кДа кодируется ORF2. Согласно иммунофлюоресцентному анализу клеток, инфицированных ЦВС-2, белок ORF2 цирковируса свиней 2-го типа локализован в ядре [17].

■ Исследование особенности иммунитета

Как установлено исследователями, поросята от иммунных свиноматок и иммунизированные лечебной сывороткой надежно защищены не только от гибели и клинических проявлений ЦВИС, но и обладают устойчивостью к заражению вирусом ЦВС-2 [16]. Наряду с присутствием возбудителя у вирусопозитивных животных содержатся и противовирусные антитела против ЦВС-2 [16]. Английские ученые установили, что уровень защиты поросят от эпизоотического варианта возбудителя пропорционально зависит от титра материнских антител [16]. В то же время материнские антитела к ЦВС-2 исчезают через восемь-девять недель после рождения, а сывороточные вновь проявляются через 13–15 недель, что указывает на инфицирование ЦВС примерно в возрасте 11–13 недель [16]. При изучении изолятов возбудителя с различными генетическими и биологическими характеристиками отмечена особенность иммунитета против ЦВИС, состоящая в разнице между аффинностью и нейтрализующей активностью антител, направленных против капсидного протеина ЦВС-2 (его протективного антигена) [16].

В 2006–2008 годах бельгийскими исследователями получено девять моноклональных антител, ни одно из которых не способно нейтрализовать сразу все семь взятых для изучения штаммов ЦВС-2, что объясняется отсутствием перекрестного иммунитета у животных, зараженных штаммами различного происхождения [16].

Циркуляция возбудителя ЦВИС среди свиноголовья приводит не столько к клиническим формам болезни и гибели свиней, сколько вызывает многочисленные экономические убытки из-за негативного воздействия на ключевые иммунокомпетентные органы свиньи и не дает возможность создать надежный длительный поствакцинальный иммунитет после применения любых вакцин против инфекционных болезней [17]. Хороший эффект от использования положительной сыворотки свиней пороссятам в неблагополучных хозяйствах отмечен перед и повторно через три недели после отлучения (в дозе от 5 мл до 20 мл на одно животное), что позволяет снизить риск заражения поросят цирковирусом в несколько раз. Применение сыворотки на начальной стадии заболевания способствует выздоровлению до 50% иммунизированных животных [16].

Литература

1. Тимина А.М. Разработка методов лабораторной диагностики цирковирусной инфекции свиней: Автореферат диссертации кандидата вет. наук. Владимир, 2006. 130 с.
2. Малоголовкин А.С. Биологические и генетические характеристики цирковирусов свиней: Автореферат диссертации кандидата биол. наук. М., 2009. 132 с.
3. Крысенко Ю.Г. Цирковирусная инфекция свиней: монография/Ю.Г. Крысенко. Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2011. 90 с.
4. Крысенко Ю.Г. Эпизоотологический мониторинг, патогенез и меры профилактики при ассоциированной форме цирковирусной инфекции свиней: Автореферат диссертации доктора вет. наук. М., 2012. 292 с.
5. Ситюк М.П., Байдалюк В.А., Ничик С.А., Розумнюк А.В., Галка И.В., Шапошник В.М., Фурда И.Л. Цирковирусные инфекции. Киев: Аграрная наука НААН, 2017. 330 с.
6. Карташов С.Н. Патоморфологическая характеристика печени и почек при цирковирусной инфекции свиней. Новости науки Казахстана, 2018. №2 (136). 200 с.
7. Коваленко А.М., Гузь С.А., Пейсак З. Диагностические подходы к

- цирковирусной инфекции свиней PCV2. Практик, 2005. №5–6. С. 46–50.
8. Орлянкин Б.Г., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А. Инфекционные респираторные болезни свиней. Ветеринария, 2006. №7. С. 18–21.
9. Сатина Т.А. Цирковирусные инфекции свиней: Обзор литературы/Т.А. Сатина. Владимир, 2003. 101 с.
10. Кольчик А.В. Применение иммуномодулятора и специфической сыворотки для лечения синдрома мультисистемного истощения отлученных поросят. Вестник аграрной науки, 2013. №3. С. 37–38.
11. Гринин А.С. Очистка, концентрирование и фракционирование вирусов животных/А.С. Гринин, И.Н. Титов. М.: Колос, 1971. 213 с.
12. Максимов Т.П. Сравнительная эффективность двух коммерческих вакцин против ЦВС-2. Современная ветеринарная медицина, 2012. №2. С. 44–45.
13. Недосеков В.В., Гавриленко А.В., Фурда И.Л. Цирковирусная инфекция свиней. Ветеринарная биотехнология, 2014. №24. С. 132–137.
14. Прудников С.И., Шкрылев А.Н., Колобаев А.И. и др. Эпизоотологическое и экономическое значение цирковирусной инфекции свиней и проблемы ее профилактики в современных услови-

- ях промышленного свиноводства. Ветеринария Кубани, 2010. №5. С. 17–18.
15. Щербаков А.В., Ковалишин В.Ф., Яковлева А.С., Шабаева Е.В. Этиологическая структура инфекционных болезней свиней в животноводческих хозяйствах России: Актуальные проблемы инфекционной патологии животных: Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 45-летию ФГБУ «ВНИИЗЖ». Владимир, 2003. С. 146–150.
16. Северин Г.В. Эпизоотологический мониторинг, выделения и изучение свойств возбудителя цирковирусной инфекции свиней: Автореферат диссертации кандидата вет. наук. Харьков, 2011. 22 с.
17. Шкаева М.А. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител к цирковирусу свиней 2-го типа: Автореферат диссертации кандидата биол. наук. М., 2006. 121 с.
18. Шкаева М.А. Иммуноферментный метод выявления антител к цирковирусу свиней 2-го типа с применением рекомбинантного капсидного белка ORF2. Вопросы вирусологии, 2006. №5. С. 4–8.
19. Segalés J. Porcine Circovirus diseases/J. Segalés, G.M. Allan, M. Domingo. Animal Health Research Reviews, 2005. Vol. 6. P. 119–142.