

DOI: 10.37925/0039-713X-2023-8-57-59

УДК 619:616.9:636.4

Динамика циркуляции цирковируса 2-го и 3-го типа по возрастам на фоне вакцинации от ЦВС-2



М.А. ЛЕОНОВА^{1,2}, кандидат вет. наук, ст. научный сотрудник, e-mail: felis-ligr@mail.ru, С.В. ЛЕОНОВ¹, ст. научный сотрудник, Н.В. ФОМЕНКО², кандидат биол. наук, ст. научный сотрудник, e-mail: FomenkoN@vector-best.ru, И.А. АКИМОВ², кандидат биол. наук, научный сотрудник, e-mail: Akimov@vector-best.ru,

¹ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук»,

²АО «Вектор-Бест»

В статье представлены исследования, направленные на оценку динамики циркуляции цирковируса 2-го и 3-го типа на поголовье свиней разных возрастных групп на фоне вакцинации от ЦВС-2. С помощью разработанных АО «Вектор-Бест» тест-систем ПЦР установлено, что у молодняка в возрасте 28–30 дней не отмечено выделение ЦВС-2 и ЦВС-3. В 70 дней ЦВС-2 не выявлен, ЦВС-3 обнаружен в 33,33% от общего числа проб. После 183-го дня положительный ЦВС-2 в 16,67%, ЦВС-3 – в 66,67% проб. С 227-го дня ЦВС-2 выделен в 57,14% проб (Ст 30–38), что возможно на фоне вакцинации без перехода инфекционного процесса в острую форму, ЦВС-3 – в 71,43% проб.

Ключевые слова: поросята на откорме, вакцинация, цирковирус свиней 2-го типа, цирковирус свиней 3-го типа, ЦВС-2, ЦВС-3, ПЦР в режиме реального времени.

Dynamics of the circulation of circoviruses of the 2 and 3 types by age against the background of PCV2 vaccination

М.А. LEONOVA^{1,2}, candidate of veterinary sciences, senior researcher, e-mail: felis-ligr@mail.ru, S.V. LEONOV¹, senior researcher, N.V. FOMENKO², candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: FomenkoN@vector-best.ru, I.A. AKIMOV², candidate of biological sciences, researcher, e-mail: Akimov@vector-best.ru, ¹Siberian Federal Scientific Centre of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences, ²JSC Vector-Best

The article presents studies aimed at assessing the dynamics of the circulation of circovirus types 2 and 3 in the population of pigs of different age groups against the background of PCV2 vaccination. With the help of the PCR test systems developed by JSC Vector-Best, it was established that in young animals 28–30 days old, no PCV2 and PCV3 were detected. At 70 days PCV2 was not isolated, PCV3 – 33.33% of the total number of samples. After 183 days, PCV2 is positive in 16.67%, PCV3 – in 66.67% of samples. From day 227, PCV2 was isolated in 57.14% of samples (time cycle 30–38), which is possible against the background of vaccination without the transition of the infectious process to an acute form; PCV3 – 71.43% of samples.

Key words: fattening piglets, vaccination, Porcine Circovirus type 2, Porcine Circovirus type 3, PCV2, PCV3, real-time PCR.

■ Введение

На современных промышленных свиноводческих предприятиях ввиду особенностей технологических процессов ветеринарной службе постоянно необходимо контролировать эпизоотическую ситуацию, не допуская вспышек инфекций. В условиях повышенной скученности животных на относительно небольшой террито-

рии первостепенными являются превентивные меры, направленные на недопущение развития болезней вирусной природы, в частности обеспечение нормального физиологического статуса и высокой резистентности организма свиней (специфическая вакцинация) [1]. К одной из таких инфекционных патологий относится цирковирозная болезнь свиней.

Источник возбудителя инфекции – больные и латентно инфицированные свиньи разных возрастных групп, которые выделяют ЦВС с фекалиями, мочой, слюной, молоком, носовыми и глазными секретами. При прямом контакте инфицированных и серонегативных поросят вирус передается через 42 суток после заражения.

На современном этапе исследований цирковирусов свиней сформировался целый ряд нозоформ, в патогенезе которых ЦВС-2 играет немаловажную роль. К этому списку относят конгенитальный (врожденный) тремор, нарушение репродуктивных функций, некротизирующие и пролиферативные плевропневмонии, экссудативные эпидермиты и энтериты [2–6].

В недавнем времени был обнаружен новый актуальный член семейства *Circoviridae*, названный цирковирусом свиней 3-го типа (ЦВС-3). Однако до сих пор наиболее частым проявлением этой вирусной инфекции, вероятно, является субклиническая форма [7, 8]. ЦВС-3 был выявлен у свиней с различными клиническими или патологическими состояниями, такими как респираторные, репродуктивные, желудочно-кишечные и неврологические расстройства; однако вирус был обнаружен и у внешне здоровых животных [9].

Первоначально ДНК ЦВС-3 также была обнаружена у свиней с респираторными заболеваниями. В последующих исследованиях сообщалось о геноме ЦВС-3 у животных из Китая с брюшным дыханием и поражениями, включая отек легких и гиперемию. Относительно недавно вирусный геном был выделен у свиней на откорме из Таиланда, страдающих комплексом респираторных заболеваний свиней (PRDC), характеризующимся кашлем, одышкой, лихорадкой и анорексией; распространенность была выше у больных животных (60%; 15 из 25), чем у здоровых (28%; 7 из 25) [10].

Диагноз «цирковирусная болезнь свиней» ставят на основании трех критериев: наличия клинических признаков болезни и результатов патологоанатомического вскрытия павших животных; эпизоотической ситуации в хозяйстве и регионе с учетом вероятности заноса инфекции – завоза животных, спермы или кормов из неблагополучных по ЦВС хозяйств, вероятных контактов через транспорт и так далее; результатов лабораторных исследований. Последние подразделяются на иммуногистохимию в лимфатических узлах, гибридизацию *in situ* (эти реакции сложны, являются дорогостоящими, трудными для поточных исследований и в РФ применяются нечасто), иммуноферментный анализ с обнаружением вирусного антигена и антител (есть только для ЦВС-2), выявление ДНК вируса методом ПЦР [4, 6].

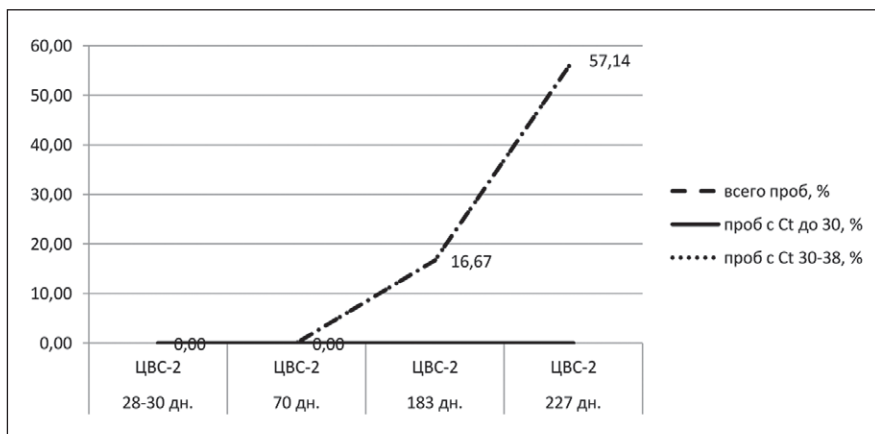


Рис. 1. Динамика циркуляции ЦВС-2 по возрастам свиней

Ввиду необходимости быстро получить результат для понимания ситуации диагностика методом ПЦР благодаря своей высокой специфичности и чувствительности позволяет не только обнаружить наличие возбудителя и установить правильный диагноз, но и проводить выявление латентно протекающей инфекции, контролировать эффективность профилактических мероприятий, лечить вторичные инфекции [11].

Из-за схожих проявлений и клинических признаков цирковирусных инфекций ветеринарная служба может испытывать затруднения в оценке эпизоотической ситуации.

Цель исследования – оценить динамику циркуляции цирковируса 2-го и 3-го типа по возрастам на фоне вакцинации от ЦВС-2.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в 2023 году на базе Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН и АО «Вектор-Бест». Исследованию подвергнуто 25 проб легких поросят и свиней породы дюрок в возрасте 28–30, 70, 183, 227 дней с респираторной патологией, потерей веса, обостренной в период доращивания, в одном из свиноводческих хозяйств Сибирского федерального округа РФ. Причиной проведения диагностики стали клинические и патологоанатомические признаки, характерные для цирковирусной болезни свиней в период откорма, при этом в анамнезе был факт вакцинации био-препаратом, включающим капсидный белок ЦВС-2а, на 21-й день с ревакцинацией в 70 дней жизни.

Молекулярно-биологические ис-

следования биоматериала проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов детекции производства АО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Суммарную ДНК выделяли из тканей внутренних органов набором «РеалБест-Вет Бета» в соответствии с инструкцией производителя. К каждому исследуемому образцу добавляли внутренний контрольный образец (ВКО), который проходит все стадии анализа и позволяет определять ложноотрицательные результаты, обусловленные потерей или деградацией ДНК, а также ингибированием ПЦР. В наборах реагентов для выявления ДНК ЦВС-2 и ЦВС-3 в качестве мишени для амплификации выбраны уникальные консервативные участки генов ORF1 и ORF2 соответственно.

Для выявления ДНК вирусов использовали амплификатор CFX96 Real-Time PCR DetectionSystem (Bio-Rad, США). В пробирку с реакционной смесью соответствующего набора детекции помещали 50 мкл раствора суммарной НК и проводили ПЦР по программе: 50°C – две минуты; 95°C – две минуты (94°C – 10 секунд, 60°C – 20 секунд*) 50 циклов.

Результаты оценивали по числу положительных проб от общего количества исследованного биоматериала, а также положительных проб с высокими нагрузками – до 30 Ct (цикл-тайм) и низким – 30–38 Ct – содержанием ДНК вирусов, которые рассчитывали в процентах.

Результаты исследований и обсуждение

Исходя из данных, приведенных на рисунке 1 и 2, обращает на себя внимание тот факт, что у молодняка в возрасте 28–30 дней не отмечена де-

*Измерение флуоресценции проводить при 60°C.

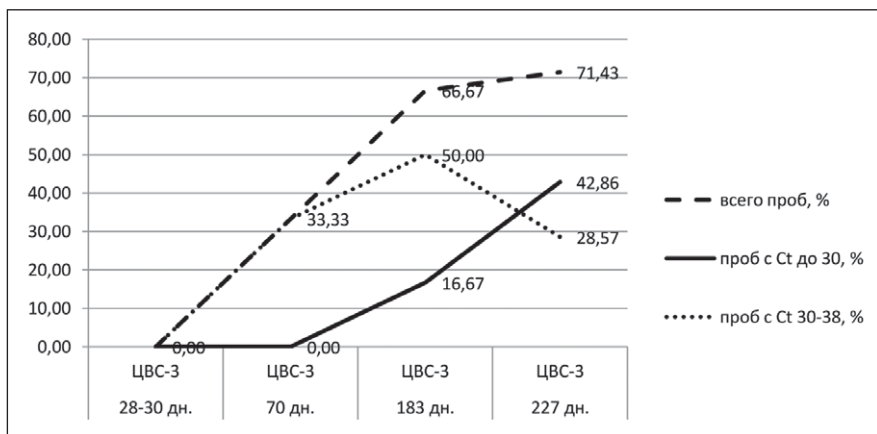


Рис. 2. Динамика циркуляции ЦВС-3 по возрастам свиней

текция ДНК цирковируса 2-го и 3-го типа. Касательно ЦВС-2 предполагается, что был активен колостральный иммунитет. В 70-дневный период генетический материал ЦВС-2 не выделен, что может быть связано с вакцинацией поголовья биопрепаратом в 21 день с ревакцинацией в 70 дней жизни и формированием иммунного ответа (рис. 1).

После 183 дня отмечено выявление ДНКЦВС-2 в 16,67% проб (Ct=30–38), а к 227-дневному возрасту – уже в 57,14% образцов.

В то же время к 70-му дню ДНК ЦВС-3 выявлена более чем в 30% проб, что, по нашему мнению, может быть обусловлено переводом и формированием групп после отъема (рис. 2). В условиях стресса перегруппировки и ослабления иммунитета наблюдается резкий рост обнаружения ЦВС-3 – 33,33% от общего количества исследованных проб материала.

В данный период по ЦВС-3 можно предположить, что как только антитела материнского происхождения ослабевают, за персистенцией патогена следует активация инфекционного процесса.

К 183 дням активизируется ЦВС-3 – 66,67% от общего числа исследуемых проб. При этом отмечается, что значение Ct<30, характерное для активного инфекционного процесса, фиксируется в 16,67%, а для начала инфекционного процесса (скрытого течения) – в 50,00% случаев (рис. 2).

С 22-го к 70-му дню отмечается нарастание концентрации ЦВС-3 с 16,67% до 42,82% (Ct<30) с параллельным снижением процента образцов с уровнем ДНК, характерным для носительства (Ct=30–38), – от 50,00% до 28,57% образцов.

Таким образом, мы наблюдаем положительную динамику роста активности ЦВС-3 с возрастом.

Безусловно, только наличие генома ЦВС-3 не может быть убедительным доказательством его причастности к развитию инфекции. Однако немаловажным является утверждение, что на фоне вакцинационного сдерживания инфекции, вызванной ЦВС-2, отсутствия перекрестного иммунитета с ЦВС-3 и высокого давления вируса 3-го типа возможны клинические проявления, характерные для цирковируса (для откормочного поголовья, в том числе выражающееся в истощении), а также открытие ворот инфекции для вторичной микрофлоры.

■ Заключение

Полученные результаты демонстрируют эпизоотическую значимость нового представителя семейства Circoviridae – ЦВС-3. С учетом отсутствия на данный момент вакцин, способных к обеспечению профилактики развития инфекции, вызванной ЦВС-3, может быть рекомендовано поддержание биологической безопасности промышленного предприятия и контроль эпизоотического процесса по этому вирусу.

Выявление ДНК ЦВС-2 и ЦВС-3 позволит ветеринарной службе свиноводческого комплекса получить информацию о циркуляции и количестве цирковирусов, их связи с патологической картиной и производственными показателями, а также принять меры по регулированию эпизоотического процесса – наладить схемы вакцинации и провести лечение.

Литература

- Петрова О.Г., Донник И.М., Исаева А.Г., Крысенко Ю.Г. Профилактика цирковирусной инфекции свиней. Аграрный вестник Урала, 2014. №5(123). С. 30–35.
- Калимуллина В.Р., Петрова О.Г. Эпизоотическое и экономическое значение цирковирусной инфекции свиней в промышленном свиноводстве: Обзор литературы. Аграрный вестник Урала, 2012. №10–2(105). С. 18–19.
- Орлянкин Б.Г., Мишин А.М. Цирковирусные болезни свиней. Свиноводство, 2010. №5. С. 50–53.
- Раев С.А., Южаков А.Г., Стаффорд В.В., Забережный А.Д., Алипер Т.И. Анализ распространенности цирковируса свиней 3-го типа в промышленном свиноводческом хозяйстве. Аграрная наука, 2020. №10. С. 28–30.
- Раев С.А., Южаков А.Г., Алексеев К.П., Аноятбеков М., Верховский О.А., Алипер Т.И. Молекулярно-биологическая характеристика изолятов цирковируса 3-го типа, выявленных в России. Свиноводство, 2019. №7. С. 57–60.
- Орлянкин Б., Раев С., Алипер Т. Новый цирковирус свиней: распространение и роль в патологии. Свиноводство, 2017. №5. С. 64–65.
- Saporiti V., Franzo G., Sibila M., Segalés J. Porcine Circovirus 3 (PCV3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV3 associated disease case definition. Transbound. Emerg. Dis., 2021. 68(6). P. 2936–2948. DOI: 10.1111/tbed.14204. PMID: 34184834; PMCID: PMC9291921.
- Palinski R., Piñeyro P., Shang P., Yuan F., Guo R., Fang Y. et al. A novel Porcine Circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. J. Virol., 2017. 91. P. e01879–16. DOI: 10.1128/JVI.01879-16.
- Franzo G., Legnardi M., Tucciarone C.M., Drigo M., Klaumann F., Sohrmann M. et al. Porcine Circovirus type 3: A threat to the pig industry? Vet. Rec., 2018. P. 182–183. DOI: 10.1136/vr.k91.
- Klaumann F., Correa-Fiz F., Franzo G., Sibila M., Núñez J.I., Segalés J. Current knowledge on Porcine Circovirus 3 (PCV3): A novel virus with a yet unknown impact on the swine industry. Front. Vet. Sci., 2018. 5:315. DOI: 10.3389/fvets.2018.00315. PMID: 30631769; PMCID: PMC6315159.
- Петрова О.Г., Донник И.М., Исаева А.Г., Крысенко Ю.Г. Диагностика цирковирусной инфекции свиней. Аграрный вестник Урала, 2014. №3(121). С. 27–31.