

# Rola cirkowirusa PCV2 w wywoływaniu zaburzeń w rozrodzie świń

MARIAN TRUSZCZYŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Truszczyński M., Pejsak Z.

## Role of circovirus PCV2 in reproductive failure in swine

### Summary

Porcine reproductive disease associated with PCV2 (PRD-PCV2), as one of several syndromes of the porcine circovirus diseases (PCVD), was characterized. Differences in relation to the Porcine Parvovirus infection, also causing reproductive failure in swine, but to a larger extent, were presented. Diagnostic tests for PCV2 identification and antibody detection were enumerated. The transplacental infection of the fetus by the viremic sow was the only way of PRD-PCV2 proliferation. The ability of PCV2 to replicate in the fetuses and cause pathologic abnormalities was demonstrated. The heart of the fetuses contained the highest virus titre and the highest number of antigen positive cells. Gross lesions observed in dead mummified or not mummified fetuses were described – the most characteristic were those in the heart. The myocardium, which was hypertrophic, showed multiple and irregular pale areas that corresponded to histological lesions of necrosis. The relationship between a herd of swine with PMWS and PRD-PCV2 as the mechanism of continuous infection in sows, fetuses and pigs growing with PMWS was presented. It was demonstrated that countering the infection is a complex task requiring the vaccination of sows against accompanying infections and against PCV2 as well as an appropriate management of the farm aimed at ensuring the welfare of animals.

**Keywords:** swine, PCV2, reproductive failure

Cirkowirus typ 2 (Porcine Circovirus 2, PCV2), scharakteryzowany w uprzedniej publikacji (19), należy do rodzaju *Circovirus*, rodziny *Circoviridae*. Jest bezotoczkowym wirusem, którego jednoniciowy DNA ma kształt kolisty – stąd nazwa. Zawiera 6 otwartych ramek odczytu (8).

PCV2 jest czynnikiem etiologicznym, samodzielnie lub wspólnie z innymi drobnoustrojami warunkowo chorobotwórczymi, szeregu zespołów chorobowych (11). Są nimi: wielonarządowy zespół wyniszczający świń (Procine Multisystemic Wasting Syndrome, PMWS), zespół skórno-nerkowy świń (Procine Dermatitis and Nephropathy Syndrome, PDNS), zapalenie płuc i zapalenie mięśnia sercowego u płodów, co prowadzi do ich zamierania i poronień (Procine Reproductive Disease associated with PCV2, PCV2-PRD) (21). Ten ostatni wymieniony zespół chorobowy, przy podobnych objawach, różni się pod względem etiologicznym od powodowanego przez świński parwowirus (Procine Parvovirus, PPV) zamierania zarodków i płodów, uznawanego za najważniejszą wirusową przyczynę zaburzeń w rozrodzie trzody chlewnej (20). Obszerne dane na temat wymienionych wyżej zespołów chorobowych świń, w etiologii których jako główny patogen występuje PCV2, przedstawili w artykule przeglądowym Segalés i wsp. (17) pod łączną, obejmującą je nazwą: wywoła-

nych przez PCV2 cirkowirusowych chorób świń (Procine Circovirus Diseases, PCVD). W polskim piśmiennictwie dane na temat należącego do PCVD, PMWS, opublikowali Truszczyński i Pejsak (19).

Celem obecnego artykułu jest omówienie piśmiennictwa dotyczącego wywołanych przez PCV2 zaburzeń w rozrodzie świń. Tego tematu dotyczą, między innymi, badania Parka i wsp. (13), w których zakażono donosowo wirusem PCV2 6 loch ciężarnych, wolnych od przeciwciał swoistych dla: PCV2, PPV, PRRS i wirusa choroby Aujeszky'ego 3 tygodnie przed spodziewanym porodem. Skutkiem było ronieenie lub przedwczesny poród. Antygen PCV2 i jego DNA wykryto odpowiednio badaniem immunohistochemicznym i hybrydyzacją *in situ* w: węzłach chłonnych, śledzionie, grasicy, płucach, migdałkach i wątrobie tak u obumarłych, jak też u żywo urodzonych, a następnie padłych prosiąt. U 3 loch nastąpiła utrata apetytu 2-4 dnia po zakażeniu (post infectione, pi). Jedna locha poroniła 7 dni pi, rodząc 11 martwych prosiąt. Kolejna locha poroniła 11 dni pi, wydając 12 martwych prosiąt. Dwie lochy roniły 18. i 21. dnia pi, rodząc, odpowiednio, 9 i 14 martwych prosiąt. Dwie samice oprosiły się 4-5 dni wcześniej niż oczekiwano. Sześć znajdujących się w doświadczeniu loch urodziło w sumie 65 martwych prosiąt i 10 żywych. Cytopatyczny wirus izolowano od 13 martwo urodzo-

nych prosiąt i od 5 żywych, następnie padłych. Sekcyjnie u 15 martwo urodzonych i 5 żywo urodzonych prosiąt stwierdzono łagodne zmiany zapalne w płucach, charakteryzujące się naciekiem komórek jednojądrzastych w pęcherzykach płucnych.

W innej publikacji (14) seronegatywne pierwiastki zakażono doustnie – donosowo (oronasally) wirusem PCV2, następnie monitorując obecność w plazmie i jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) wymienionego wirusa i jego DNA. Wirus wykazano w plazmie jedynie 21 dni pi, a wirus związany z PBMC między 14. a 49. dniem pi. Wirusowe DNA wykryto w plazmie między 14. a 49. dniem pi, a związany z PBMC między 7. a 63. dniem pi, kończąc w tym momencie ten cykl badań. Wyniki monitoringu PCV2 po jego bezpośredniej, dopłodowej iniekcji 57., 75. i 92. dnia trwania ciąży i po zebraniu płodów po 21 dniach wykazały, że namnaża się on intensywnie w tkankach płodu, zwłaszcza mięśnia sercowego. Śmierć płodów oraz wykrycie PCV2 i przeciwciał miało miejsce w przypadku zakażonych w 57. dniu ciąży, podczas gdy u płodów zakażonych 75. i 92. dnia ciąży, które przeżyły, stwierdzono wirus i swoiste przeciwciała. Badania dotyczące płodów zakażonych 57. i 75. dnia ciąży, przy kolekcji ich przy końcu ciąży wykazały, że następuje wewnątrzmaciczna infekcja od nich płodów sąsiednich, niezakażonych doświadczalnie. Stwierdzono też wewnątrzmaciczne ich obumieranie, mimo występowania przeciwciał swoistych dla PCV2. Przedstawione wyniki dowiodły, że PCV2 powoduje u płodów wiremie i śmierć płodów, które mogą ulegać mumifikacji.

Z analogicznych, jak wyżej, badań wynikało również (16), że u zakażonych wewnątrzmacicznie płodów następuje replikacja wirusa i spowodowane przez niego zmiany chorobowe. Rozmnażanie PCV2 było intensywniejsze u płodów zakażonych 57. dnia w porównaniu do zakażonych 75. i 92. dnia ciąży. Serca płodów i w tych badaniach zawierały najwyższe stężenia PCV2. Zmiany patologiczne wykazano u płodów zakażonych w 57. dniu ciąży, a przeciwciała u płodów zakażonych 75. i 92. dnia trwania ciąży (16). Przeciwnie niż w poprzednio cytowanej pracy (14) nie stwierdzono infekcji płodów od sąsiednich, zakażonych doświadczalnie.

Odpowiedź immunologiczna na doświadczalną infekcję wywołaną przez PCV2 u rosnących świń, w tym przyszłych matek, charakteryzowała się serokonwersją występującą między 14. a 28. dniem po zakażeniu (2, 5, 12). Towarzyszyły jej objawy kliniczne, w tym PMWS oraz okresowa wiremia. Ale infekcja mogła też mieć przebieg bezobjawowy.

Przypadki terenowe PCV2-PRD cechują się ronieniem loch w ostatnim, przedporodowym okresie ciąży lub rodzeniem martwych prosiąt przy braku (21) lub przy współdziałaniu innych warunkowo chorobotwórczych drobnoustrojów (11). Większość publikacji na ten temat pochodzi z Ameryki Północnej (17), a stosunkowo nieliczne z Europy (14, 16, 17).

U urodzonych martwo prosiąt, względnie prosiąt żywych, ale osłabionych i padających wkrótce po urodze-

niu, stwierdza się przekrwienia wątroby oraz przerost mięśnia sercowego z wieloogniskowymi obszarami odbarwień tkanki mięśniowej odpowiadającymi w badaniu histologicznym zmianom martwiczym (11, 17, 21). Główną zmianą mikroskopową PD-PCV2 jest występujące w sercu włóknikowe lub martwicze zapalenie tkanki mięśniowej (11, 21).

Wykazana została też wzajemna relacja między lochami pochodzącymi z ferm, w których stwierdzono występowanie PMWS, a obserwowanymi zaburzeniami w rozrodzie, określanymi jako PRD-PCV2, których nasilenie w takiej sytuacji było wyższe niż w przypadku loch z ferm, w których nie notowano PMWS. Obserwowano również wpływ występowania wiremii u loch ciężarnych na infekcję wywołaną przez PCV2 u płodów i występowanie PRD-PCV2. Częstość transplacentalnej infekcji ograniczał wysoki poziom u loch przeciwciał anty PCV2. Dodać należy, że zaburzenia w rozrodzie wywołane przez pochodzący od loch wywodzących się z ferm z PMWS wirus PCV2 nie tylko stanowią przyczynę zamierania płodów i rodzenia słabych prosiąt, ale w odniesieniu do tych, które przeżyją, stanowią źródło czynnika etiologicznego PMWS i utrzymującej się infekcji PCV2 u pierwiastek (5). Tym sposobem zamyka się krąg drogi infekcji od warchlaków z ferm, w których występuje PMWS, przez wywodzące się z nich lochy, a następnie ich potomstwo, które przeżywa PRD-PCV2, ale pozostaje nosicielami PCV2.

W warunkach terenowych u rosnących prosiąt niezakażonych przed porodem wirusem PCV2 poziom przeciwciał siarowych stopniowo obniża się, po czym następuje aktywna serokonwersja w 7.-12. tygodniu życia w wyniku zakażenia ich przez znajdujący się w ich otoczeniu PCV2 (4). Przeciwciała utrzymują się co najmniej do 28. tygodnia życia lub dłużej (15), co może opóźniać pojawianie się PMWS (15). Jednakże Hassings i wsp. (6) nie wykazali znamiennej ochrony przeciw PMWS ze strony nawet wysokiego poziomu przeciwciał siarowych, swoistych dla PCV2. Przemawia za tym obecność przeciwciał anty-PCV2 u świń 2-3-miesięcznych, a nawet u kończących okres tuczu lub przechodzących do stada loszek, u których można wykazywać wiremie PCV2. Jest ona źródłem transplacentalnego zakażenia płodów oraz rozwinięcia się PCV2-PRD (5, 18).

W terenowym rozpoznawaniu PCV2-PRD istotne znaczenie diagnostyczne, oprócz ronień wkrótce przed przewidzianym porodem oraz rodzenia martwych lub słabych prosiąt, mają zmiany w sercu określane jako włóknikowe lub martwicze zapalenie mięśnia sercowego. Wskazuje na nie również obecność dużych ilości PCV2 w obrębie zmian patologicznych, występujących w sercu i innych narządach. W rozpoznaniu różnicowym należy brać pod uwagę zakażenie świń wywołane przez PPV stanowiący najważniejszą zakaźną przyczynę zamierania zarodków i płodów, a nie wywołujący mimo infekcji objawów chorobowych nie tylko u loch, ale również u innych świń, niezależnie od wieku. Tym różni się infekcja wywołana przez PPV od PCV2, który oprócz zaburzeń w rozrodzie wywołuje u warchlaków PMWS oraz PDNS i zapalenie płuc (20).

W laboratoryjnej identyfikacji PCV2 wykorzystać należy hybrydyzację *in situ* (in situ hybridisation, ISH) i metody immunohistochemiczne (10). Jego kwas nukleinowy lub antygeny występują w cytoplazmie histocytów, wielojądrowych komórek olbrzymich i innych, jak np. makrofagi komórek pęcherzyków płucnych i komórek Kupffera (1). Głównymi komórkami zawierającymi antygeny lub kwas nukleinowy PCV2 są w przypadku płodów miokardiocyty (16).

Do metod wykrywających swoiste dla PCV2 przeciwciała zalicza się stosowanie komórek zwierzęcych z jego antygenami, połączonymi z peroksydazą do testu immunofluorescencji. Wykorzystywana jest też ELISA ze swoistym antygenem (4, 9). Dodać należy, że PCV2 występuje wśród pogłowia świń powszechnie, a wzorce serokonwersji są podobne u świń z cirkowirusowymi zespołami chorobowymi, którym towarzyszą objawy kliniczne jak u zakażonych PCV2 świń, nie wykazujących zaburzeń w zdrowiu (18).

Ze względu na powszechnie występujące u świń zakażenie PCV2, bez towarzyszących objawów chorobowych u dużego odsetka nosicieli wirusa, nie podejmowano prób ograniczania infekcji cirkowirusowych, w tym zwłaszcza w odniesieniu do konsekwencji wywołanych przez PCV2 zaburzeń w rozrodzie. Natomiast PMWS, najważniejszy zespół chorobowy w obrębie PCVD, jest obecnie określany jako choroba o etiologii wieloczynnikowej. Powstaje ona bowiem w wyniku infekcji PCV2, z reguły wspieranej innymi drobnoustrojami warunkowo chorobotwórczymi, jak też szkodliwymi nieinfekcyjnymi czynnikami, które mogą występować w środowisku bytowania świń, obniżając naturalną odporność na zachorowanie. W związku z wieloczynnikową etiologią PCVD, a zwłaszcza PMWS, stosowanie immunoprofilaktyki przeciw możliwym infekcjom dodatkowym lub stymulowanie odporności nieswoistej winno być brane pod uwagę. Nie stosowanie szczepień przeciw zakażeniom, wywołanym przez inne niż PCV2 drobnoustroje zwiększa bowiem straty powodowane przez zakażenia towarzyszące (7). Stosowanie szczepionek z antygenami PCV2 u macior w celu podwyższenia miana przeciwciał humoralnych i odporności przeciwzakażnej uznaje się obecnie również za wskazane ze względu na zmniejszanie strat z powodu zaburzeń w rozrodzie i padnięć noworodków, jak też PMWS (5). Mimo dostępności i stosowania w szeregu przypadków szczepionek inaktywowanych i podjednostkowych z antygenami PCV2 ich znaczenie w obniżaniu strat z powodu tak zaburzeń w rozrodzie, jak też PMWS nie zostało jednoznacznie ocenione (3). Jednak ze względu na to, że PCV2 zaliczany jest do drobnoustrojów warunkowo chorobotwórczych, uczestniczących w etiologii zespołów chorobowych o etiologii wieloczynnikowej, skuteczność immunoprofilaktyki jest znacznie mniejsza niż w przypadku chorób wywołanych przez jeden drobnoustroj bezwzględnie chorobotwórczy. W związku z tym ma ona w programach profilaktycznych jedynie znaczenie pomocnicze. Natomiast główną rolę w ograniczaniu strat związanych z intensywnym zakażeniem świń PCV2 odgrywa właściwe zarządzanie (management)

fermą, obejmujące czynniki przyczyniające się do wytworzenia korzystnych w chowie świń warunków środowiskowych zapewniających ich dobrostan (welfare).

## Piśmiennictwo

- Allan G. M., Ellis J. A.: Porcine circoviruses: a review. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, 12, 3-14.
- Allan G. M., Kennedy S., McNeilly F., Foster J. C., Ellis J. A., Krakowka S. J., Meehan B. M., Adair B. M.: Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *J. Comp. Pathol.* 1999a, 121, 1-11.
- Blanchard P., Mahe D., Cariolet R., Keranflech A., Baudouard M. A., Cordioli P., Albina E., Jestin A.: Protection of swine against post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) by porcine circovirus type 2 (PCV2) proteins. *Vaccine* 2003a, 21, 4565-4575.
- Blanchard P., Mahe D., Cariolet R., Truong C., Le Dimna M., Arnaud C., Rose N., Eveno E., Albina E., Madec F., Jestin A.: An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Vet. Microbiol.* 2003b, 94, 183-194.
- Calsamiglia M., Segalés J., Quintana J., Rosell C., Domingo M.: Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 1848-1850.
- Hassings A. G., Kristensen C. S., Baebko P., Wachmann H.: Effect of sow on the mortality of pigs after weaning in PMWS herds, [w:] *Proc. Internat. Pig Veterinary Society Congress, Hamburg 2004*, s. 76.
- Krakowka S., Ellis J., McNeilly F., Waldner C., Rings M., Allan G.: Commercial mycoplasma vaccines and potentiation of PCV2 infection, [w:] *Proc. 36<sup>th</sup> Ann. Meeting Am. Assoc. of Swine Veterinarians, Toronto 2005*, s. 259-261.
- Mankertz A., Person F., Mankertz J., Blaess G., Buhk H.-J.: Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. *J. Virology* 1997, 71, 2562-2566.
- McNair I., Marshall M., McNeilly F., Botner A., Ladekjaer-Mikkelsen A. S., Vincent I., Herrmann B., Sánchez R., Rhodes C.: Interlaboratory testing of porcine sera for antibodies to porcine circovirus type 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2004, 16, 164-166.
- McNeilly F., Kennedy S., Moffett D., Meehan B. M., Foster J. C., Clarke E. G., Ellis J. A., Haines D. M., Adair B. M., Allan G. M.: 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). *J. Virol. Methods* 1999, 80, 123-128.
- O'Connor B., Gauvreau H., West K., Bogdan J., Ayroud M., Clark E. G., Konoby C., Allan G., Ellis J. A.: Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can. Vet. J.* 2001, 42, 551-553.
- Okuda Y., Ono M., Yazawa S., Shibata I.: Experimental reproduction of post-weaning multisystemic wasting syndrome in cesarean-derived, colostrums-deprived piglets inoculated with porcine circovirus type 2 (PCV2): investigation of quantitative PCV2 distribution and antibody responses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, 15, 107-114.
- Park J.-S., Kim J., Ha Y., Jung K., Choi C., Lim J.-K., Kim S.-H., Chae C.: Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J. Comp. Pathol.* 2005, 132, 139-144.
- Pensaert M. B., Sanchez Jr. R. E., Ladekjaer-Mikkelsen A.-S., Allan G. M., Nauwynck H. J.: Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Vet. Microbiol.* 2004, 98, 175-183.
- Rodriguez-Arriola G. M., Segalés J., Calsamiglia M., Resendes A. R., Balasch M., Plana-Duran J., Casal J., Domingo M.: Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 2002, 63, 354-357.
- Sánchez Jr. R. E., Hans J., Nauwynck J., McNeilly F., Allan G. M., Pensaert M. B.: Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet. Microbiol.* 2001, 83, 169-176.
- Segalés J., Allan G. M., Domingo M.: Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 2005, 6, 1-24.
- Sibila M., Calsamiglia M., Segalés J., Blanchard P., Badiella L., Le Dimna M., Jestin A., Domingo M.: Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 2004, 65, 88-92.
- Truszczyński M., Pejsak Z.: Mechanizm chorobotwórczości cirkowirusów ze szczególnym uwzględnieniem poodrażeniowego, wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń i wskazania do jego zwalczania. *Medycyna Wet.* (w druku).
- Truszczyński M., Pejsak Z.: Parwovirus świń, najważniejsza zakaźna przyczyna zamierania zarodków i płodów. *Medycyna Wet.* 2008, 64, 10-13.
- West K. H., Bystrom J. M., Wojnarowicz C., Shantz N., Jacobson M., Allan G. M., Haines D. M., Clark E. G., Krakowka S., McNeilly F., Konoby C., Martin K., Ellis J. A.: Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1999, 11, 530-532.

Adres autora: prof. dr hab. Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mtruszcz@piwet.pulawy.pl