

Nowe parwowirusy świń

KATARZYNA PODGÓRSKA, ANNA SZCZOTKA-BOCHNIARZ

Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 17.07.2013

Zaakceptowano 15.11.2013

Podgórska K., Szczotka-Bochniarz A.
Newly emerging porcine parvoviruses

Summary

During the last decade a variety of previously unknown porcine parvoviruses (PPV) were identified. New species were classified as PPV2, PPV3, PPV4, bocaviruses or hokoviruses. Preliminary investigations indicate that some of the newly emerging parvoviruses are relatively widespread in the Polish pig population. These findings suggest that the evolution and diversity of parvoviruses is much more complex than previously assumed. Current scientific efforts focus on issues such as the prevalence, pathogenic potential, genetic and antigenic variability, as well as the further evolution of parvoviruses. The aim of the present study was to summarize current knowledge regarding the newly described parvovirus species.

First atypical strains of parvoviruses were detected in Asia and classified as PPV2. Latest studies have showed that PPV2 is present in swine in Hungary. In 2008, Lau et al. described animal parvoviruses similar to the human parvovirus PARV4. After the place of their first isolation (Hong Kong), the names “porcine hokovirus” (PHoV) and “bovine hokovirus” (BHoV) were proposed. In 2010, Cheung et al. suggested including PHoV in the Parvovirus genus and changing its name to “PPV3,” but this classification is still unofficial. The presence of PPV3 genotype was confirmed in pigs in Hungary, Great Britain, and Romania, as well as in the population of wild boars in Germany.

Another species, PPV4, was found in 2005 in North Carolina (USA). PPV4 has also been detected in China, in both healthy and diseased pigs. In Hungary, PPV4 infection has been confirmed in 13 out of 57 herds analyzed, which suggests a large prevalence of this virus in the swine population. The presence of bocaviruses has been detected in pigs in Sweden, China, and Hungary, as well as in wild boars in Romania. Preliminary results suggest that in the swine population in Poland, not only classical PPV1, but also PPV2, PPV3, and PPV4 are present.

Keywords: parvoviruses, hokoviruses, bocaviruses, new PPV serotypes

„Klasyczny” parwowirus świń – PPV1

Parwowirusy należą do najmniejszych wirusów zwierzęcych. Wirion o średnicy 18-26 nm zawiera liniowy genom DNA o wielkości około 5 tys. par zasad, zwykle zawierający dwie otwarte ramki odczytu. Do rodziny *Parvoviridae* zalicza się dwie podrodziny: *Densovirinae*, zawierającą wirusy zakażające owady, oraz *Parvovirinae*, w której sklasyfikowano szereg wirusów zakażających ludzi i zwierzęta. Podrodzina *Parvovirinae* zawiera rodzaje Dependovirus, Erythrovirus, Andovirus, Bocavirus oraz Parvovirus. Do rodzaju Parvovirus zalicza się parwowirus świń (PPV), który po odkryciu w ostatnich latach nowych wariantów parwowirusów określa się jako „klasyczny” parwowirus świń typu 1 (PPV1). Klasyczny PPV1 tworzy jednolitą grupę powszechnie występujących wirusów charakteryzujących się wysoką immunogennością i wywołujących zaburzenia w rozrodzie u świń. Zakażenie PPV1 w pierwszych 2 miesiącach ciąży może prowadzić do nieregularnych cykli

rujowych na skutek zamierania embrionów, mumifikacji płodów, rodzenia się prosiąt martwych lub mało żywotnych, niewielkiej liczby prosiąt w miocie oraz obniżenia skuteczności krycia lub inseminacji (13). Obecnie problemy w rozrodzie wywoływane przez PPV1 zostały w znacznym stopniu wyeliminowane poprzez powszechne stosowanie profilaktyki swoistej, jednak w związku z odkryciem nowych wariantów PPV powstają pytania dotyczące ich udziału w wywoływaniu zaburzeń zdrowia u świń, rozprzestrzenienia nowych typów oraz poziomu odporności krzyżowej, jaką zapewniają obecnie stosowane szczepionki oparte na PPV1.

Parwowirus świń typu 2 – PPV2

Pierwsze nietypowe szczepy parwowirusów zostały wykryte przypadkowo podczas badań dotyczących wirusa zapalenia wątroby typu E (HEV) w Azji (9). Mimo że wyizolowany wirus należał bez wątpienia do parwowirusów, analiza filogenetyczna wykazała, iż tworzył odrębną grupę znacznie różniącą się od kla-

sycznych szczepów PPV1. Do niedawna pojawienie się nowego typu parwowirusa uważano za jednorazowy przypadek, jednak w ostatnich latach pojawił się szereg doniesień na temat nowych wariantów parwowirusów.

W latach 2006-2007 w Chinach stwierdzono występowanie tzw. „wysokiej gorączki” świń. Objawy kliniczne pojawiały się we wszystkich grupach wiekowych i wiązały się z bardzo wysoką śmiertelnością sięgającą 60%. Badania wykazały, że choroba była wywoływana przez nowe szczepy wirusa zespołu rozrodczo-oddechowego świń o wysokiej patogenności, przy współdziałaniu cirkowirusa świń typu 2 (PCV2) i związanego z nim poodradzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego (PMWS). Jednocześnie, w trakcie poszukiwania czynnika etiologicznego, wykryto nietypowe szczepy parwowirusów, o wysokim stopniu podobieństwa genetycznego do stwierdzonych w 2001 r. w Azji (16). Nową grupę parwowirusów sklasyfikowano jako PPV2. Nie jest jasne, czy wirusy te miały związek z wystąpieniem wysokiej gorączki świń i czy mogą wywoływać objawy chorobowe. Nadal niewiele jest dostępnych danych na temat występowania PPV2. Najnowsze badania wykazały, że zakażenia PPV2 występują u świń na Węgrzech (8).

Parwowirus świń typu 3 – PPV3

W 2008 r. Lau i wsp. opisali badania dotyczące oceny parwowirusów zwierzęcych pod względem podobieństwa do ludzkiego parwowirusa PARV4 (11). Badania doprowadziły do identyfikacji nowej grupy parwowirusów świń i była o znacznym stopniu podobieństwa genetycznego do ludzkich parwowirusów PARV4 i PARV5. Od miejsca pierwszej izolacji wirusa (Hongkong) odkrywcy zaproponowali nazwę hokowirusy świń (porcine hokovirus – PHoV) i była (BHoV). W 2010 r. Cheung i wsp. (7) zaproponowali włączenie PHoV do rodzaju Parvovirus pod nazwą PPV3, jednak ta klasyfikacja ma nadal charakter nieoficjalny. Inni autorzy proponują stworzenie osobnego rodzaju hokowirusów, do którego należałyby PPV3, a także PARV4 i PARV5 oraz BPV4 (7).

Obecność PPV3 stwierdzono w największej ilości w węzłach chłonnych, ale także w śledzionie, płucach, surowicy krwi oraz w próbkach kału (8, 11), co sugeruje, że wirus może zakażać różne rodzaje tkanek. PPV3 izolowano zarówno od świń klinicznie zdrowych, jak i od świń z objawami chorobowymi. Podobnie jak w przypadku PPV2 nie można w chwili obecnej ocenić, czy wirusy z tej grupy mogą być patogenne dla świń.

Niewiele wiadomo o rozprzestrzenianiu PPV3. W Europie stwierdzono występowanie tego genotypu na Węgrzech, w Wielkiej Brytanii i w Rumunii, a także w populacji dzików w Niemczech (1, 5, 8, 15). Starsze sekwencje hokowirusów świń wykazywały wyższe podobieństwo do PARV4 w porównaniu do izolowanych w latach późniejszych, co może wskazywać, że wirus ten znajduje się nadal w okresie adaptacji do organizmu gospodarza (15).

Badania 156 próbek surowicy i wątroby od dzików z różnych regionów Niemiec wykazały wysoki odsetek zakażeń PPV3, sięgający 32,7% (1). Autorzy zaobserwowali, że poziom wirerii był w większości przypadków wyższy u dzików poniżej 2. roku życia, jednak odsetek zakażonych dzików wzrastał z wiekiem. Wyniki te sugerują, że PPV3 może, podobnie jak ludzkie parwowirusy PARV4 i PARV5, wywoływać zakażenia przetrwałe i przez długi okres utrzymywać się w tkance wątroby. Podobny wzrost częstości zakażeń PPV3 wraz z wiekiem stwierdzono także u dzików w Rumunii (5). Ponadto autorzy zaobserwowali wzrost rozprzestrzenienia PPV3 w kolejnych sezonach łowieckich. Odsetek dzików, u których stwierdzono zakażenie PPV3 w sezonie 2006/2007, wynosił 22,76%, natomiast w sezonie 2010/2011 zakażonych było już 50,54% dzików. W chwili obecnej brak informacji o rozprzestrzenieniu PPV3 w populacji świń w Europie.

Parwowirus świń typu 4 – PPV4

Kolejny gatunek PPV4 został zidentyfikowany w 2005 r. w Karolinie Północnej w USA, w płynie popłuczynowym z dróg oddechowych świń z cirkowirozą (7). PPV4 wykryto także w Chinach (10), zarówno u świń klinicznie zdrowych, jak i z objawami klinicznymi. Badaniom poddano próbki z lat 2006-2010, jednak PPV4 stwierdzono jedynie w próbkach z lat 2009-2010. Autorzy sugerują, że w tym okresie wirus został zawleczony do Chin z Karoliny Północnej (USA) razem z importowanymi świniąmi, wskazując, że 2 z ferm, w których wykryto PPV4, sprowadzały świnię z Karoliny Północnej. Ponadto stwierdzono wysoki stopień podobieństwa nukleotydowego pomiędzy szczepami z Karoliny Północnej a chińskimi, wynoszący 98,5-100%.

Na Węgrzech zakażenia PPV4 zidentyfikowano w 13 z 57 analizowanych stad, co sugeruje znaczące rozprzestrzenienie wirusa w populacji świń (8). Wirusy tego genotypu wykrywano głównie w próbkach kału, ale także we krwi i nasieniu. Stwierdzono również zakażenie PPV4 w przypadku 3 z 4 poronionych płodów, u których nie wykryto żadnego innego patogenu związanego z zaburzeniami reprodukcyjnymi. W przypadku badań przeprowadzonych w Chinach 10 z 13 próbek dodatnich na PPV4 pochodziło od loch wykazujących zaburzenia rozrodcze (10). Może to sugerować związek PPV4 z zaburzeniami w rozrodczości, jednak w celu potwierdzenia tej hipotezy konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

Ze względu na pewne podobieństwa genetyczne PPV4 do bocawirusów (dodatkowa otwarta ramka odczytu ORF3) niektórzy autorzy proponują włączenie go do rodzaju Bocavirus (17), jednak białko kodowane przez ORF3 u PPV4 różni się w znacznym stopniu od bocawirusów (6). Dalsze badania mogą prowadzić do zmian pozycji systematycznej PPV4.

Bocawirusy

Pierwsze wirusy tego typu wyizolowano w latach 1961-1970 od bydła (bovine parvovirus – BPV) i psów (minute virus of canine – MVC) z przypadków zaburzeń układu pokarmowego i oddechowego oraz zaburzeń rozrodczych. Od innych wirusów z rodziny *Parvoviridae* wyróżnia je dodatkowa ramka odczytu ORF3 pomiędzy dwiema głównymi ORF1 i ORF2 kodującymi białka NS1 i VP1. W 2005 r. opisano odkrycie podobnego wirusa u dzieci z ostrą infekcją dróg oddechowych. Ze względu na podobieństwo do BPV i MCV nazwano go ludzkim bocawirusem (human bocavirus – HBoV), łącząc początek angielskich określeń „bydłęcy” i „psi” (bovine i canine). W ciągu kilku ostatnich lat zidentyfikowano 3 nowe typy HBoV – 2, 3, 4 związane z występowaniem zaburzeń układu oddechowego oraz pokarmowego u ludzi (6).

W trakcie badań mających na celu identyfikację czynników stymulujących występowanie PMWS w Szwecji Blomstrom i wsp. (3) wykryli u świń wirusa podobnego do bocawirusów ludzkich (porcine boca-like virus – PBo-likeV lub PoBoLV). U dwóch świń z PMWS w węzłach chłonnych stwierdzono poza PCV2 i PBo-likeV także obecność wirusa torque teno (TTV). W celu oceny występowania koinfekcji PCV2, TTV-1, TTV-2 oraz PBo-likeV przeprowadzono dalsze badania, które objęły 34 świny z PMWS oraz 24 świny wolne od syndromu (2). Nie stwierdzono różnic w częstości zakażeń TTV-1 w obydwu grupach. Nieznacznie więcej świń z PMWS w porównaniu do świń bez objawów klinicznych było zakażonych TTV-2. Istotną różnicę stwierdzono natomiast w przypadku PBo-likeV. W grupie świń z PMWS wirus ten występował u 88%, natomiast w grupie kontrolnej u 46% zwierząt. 77% świń z grupy PMWS wykazywało zakażenie wszystkimi 4 patogenami, natomiast w grupie kontrolnej odsetek ten wynosił 33%. Obserwacje te wskazują, że w przebiegu PMWS duże znaczenie mogą odgrywać zakażenia wieloczynnikowe i w chwili obecnej nie można wykluczyć udziału TTV i PBo-likeV w patogenezie syndromu.

Poza Szwecją występowanie PBo-likeV stwierdzono u świń w Chinach (17) i na Węgrzech (8) oraz u dzików w Rumunii (5). Badania przeprowadzone w Chinach obejmowały 191 próbek od świń z objawami klinicznymi ze strony układu oddechowego lub zaburzeniami rozrodczymi oraz 41 próbek od świń bez objawów klinicznych. Częstość zakażeń PBo-likeV była statystycznie istotnie wyższa u świń z objawami klinicznymi i wynosiła 38,7%, podczas gdy w grupie kontrolnej stwierdzono zakażenie na poziomie 7,3%. Częstość zakażeń była wyższa u odsadzonych prosiąt w porównaniu do starszych grup wiekowych. Znacznie mniej zakażeń stwierdzono na Węgrzech – jedynie 6 próbek (1,5%) z 6 różnych stad dało wynik dodatni (8). Badania próbek od 842 dzików pobranych w latach 2006-2011 w Rumunii wykazały, że 12,9% z nich było

zakażonych PBo-likeV (4). Częstość zakażeń wzrastała w kolejnych latach, co może wskazywać na ekspansywny charakter zakażeń. Zakażenia występowały głównie u młodych zwierząt, do 12. miesiąca życia (77% wszystkich zakażeń).

Cztery kolejne gatunki bocawirusów świń PBoV1 i PBoV2 oraz 6V i 7V wykryto metodą SISPA (sequence-independent single primer amplification) w Chinach w próbkach kału pobranych od zdrowych świń poniżej 15. dnia życia (6). Kolejne badania wykazały stosunkowo wysoki poziom zakażenia stad w Chinach wirusami z grupy PBoV1 i PBoV2, wahający się w różnych prowincjach, odpowiednio, od 45 do 75% i od 55 do 70% (14). Występowanie wszystkich czterech powyższych gatunków potwierdzono u świń na Węgrzech, jednak częstość zakażeń nie przekraczała 4,8% (8).

W 2011 r. opisano dwa kolejne gatunki: bocawirusy PBoV3 i PBoV4 wyizolowane od świń z fermy dotkniętej PMWS w Irlandii Północnej (12), brak jednak jakichkolwiek dalszych doniesień na ten temat. Zhang i wsp. (17) zaproponowali podział systematyczny różniący się od podanego powyżej, grupując bocawirusy w cztery gatunki łącznie z PPV4: PoBoV1 (porcine boca-like virus, PBo-likeV), PoBoV2 (PPV4), PoBoV3 (PBoV1/PBoV2) oraz PoBoV4 (6V/7V). Należy jednak podkreślić, że ze względu na niewielką ilość danych i pojawiające się w ostatnim okresie nowe informacje podane w tej publikacji sposoby klasyfikacji parwowirusów należy uznać za tymczasowe.

Występowanie nowych parwowirusów świń w Polsce

Wstępne badania przeprowadzone przez Zakład Chorób Świń PIWet-PIB we współpracy z Szent Istvan University (Węgry) wskazują, że poza zakażeniami klasycznym PPV1 w populacji świń w Polsce występują także zakażenia PPV2, PPV3 i PPV4 (Cadar i wsp., publikacja w przygotowaniu). Badania przeprowadzono w 12 losowo wybranych fermach z 10 województw. W sumie analizie testem PCR poddano 185 próbek pobranych w 2011 r. W 7 fermach stwierdzono jednoczesne krążenie PPV2, PPV3 i PPV4, w kolejnych występowały PPV2 i PPV4, w jednej fermie występowały zakażenia PPV2. Podobny, wysoki poziom koinfekcji różnymi gatunkami parwowirusów świń stwierdzono w szczegółowych badaniach przeprowadzonych na Węgrzech (8). Jedynie w jednej próbce wykryto PPV1, co świadczy o wysokiej skuteczności profilaktyki swoistej w ograniczaniu zakażeń tym patogenem. Jednocześnie wyniki te wskazują, że odporność krzyżowa nie zabezpiecza przed zakażeniami nowymi gatunkami parwowirusów.

Podsumowanie

Szereg odkrytych w ostatnich latach nowych genotypów parowirusów świń wskazuje na znacznie wyższe zróżnicowanie tej grupy wirusów niż dotychczas sądzono. Niewiele wiadomo na temat rozprzestrzenie-

nia nowych genotypów, brak również bezpośrednich danych na temat ich patogenności. Podobieństwo niektórych wirusów (np. hokowirusów) do parwowirusów ludzkich może wskazywać na potencjalnie zoonotyczny charakter zakażeń PPV. Nie ma w chwili obecnej żadnych danych dotyczących poziomu odporności krzyżowej szczepionek opartych na PPV1 w stosunku do nowo odkrytych parwowirusów.

Wszystkie wykryte dotąd szczepy PPV4 i PBo-likeV są w znacznym stopniu jednorodne genetycznie, co świadczy o wysokim stopniu adaptacji tych wirusów do organizmu gospodarza (8). Wyższy stopień zróżnicowania genetycznego stwierdzono jednak w przypadku PPV2, PPV3, PBoV oraz 6V i 7V. Szczególnie w przypadku PBoV występujące w genomie delecje, insercje oraz wysoki stopień zmienności genetycznej wskazują na trwający proces adaptacji wirusa do organizmu gospodarza. Z pewnością, biorąc pod uwagę fakt szybkiej ewolucji wirusów, konieczne jest monitorowanie populacji świń w zakresie zakażeń PPV, zmienności genetycznej i antygenowej tych wirusów, a także ich ewentualnych właściwości patogennych.

Piśmiennictwo

1. Adlhoch C., Kaiser M., Ellerbrok H., Pauli G.: High prevalence of porcine Hokovirus in German wild boar populations. *Virology*, 2010, 7, 171, doi: 10.1186/1743-422X-7-171.
2. Blomstrom A. L., Belák S., Fossum C., Fuxler L., Wallgren P., Berg M.: Studies of porcine circovirus type 2, porcine boca-like virus and torque teno virus indicate the presence of multiple viral infections in postweaning multisystemic wasting syndrome pigs. *Virus Res.* 2010, 152, 59-64.
3. Blomstrom A. L., Belák S., Fossum C., McKillen J., Allan G., Wallgren P., Berg M.: Detection of a novel porcine boca-like virus in the background of porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome. *Virus Res.* 2009, 146, 125-129.
4. Cadar D., Cságola A., Lorincz M., Tombác K., Kiss T., Spínu M., Tuboly T.: Genetic detection and analysis of porcine bocavirus type 1 (PoBoV1) in European wild boar (*Sus scrofa*). *Virus Genes* 2011, 43, 376-379, doi: 10.1007/s11262-011-0650-4.
5. Cadar D., Cságola A., Lorincz M., Tombác K., Spínu M., Tuboly T.: Distribution and genetic diversity of porcine hokovirus in wild boars. *Arch. Virol.* 2011, 156, 2233-2239.
6. Cheng W. X., Li J. S., Huang C. P., Yao D. P., Liu N., Cui S. X., Jin Y., Duan Z. J.: Identification and nearly full-length genome characterization of novel porcine bocaviruses. *PLoS One* 2010, 5, 13583, doi: 10.1371/journal.pone.0013583.
7. Cheung A. K., Wu G., Wang D., Bayles D. O., Lager K. M., Vincent A. L.: Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus. *Arch. Virol.* 2010, 155, 801-806, doi: 10.1007/s00705-010-0646-8.
8. Csagola A., Lőrincz M., Cadar D., Tombác K., Biksi I., Tuboly T.: Detection, prevalence and analysis of emerging porcine parvovirus infections. *Arch. Virol.* 2012, 157, 1003-1010, doi: 10.1007/s00705-012-1257-3.
9. Hijikata M., Abe K., Win K. M., Shimizu Y. K., Keicho N., Yoshikura H.: Identification of new parvovirus DNA sequence in swine sera from Myanmar. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2001, 54, 244-245.
10. Huang L., Zhai S. L., Cheung A. K., Zhang H. B., Long J. X., Yuan S. S.: Detection of a novel porcine parvovirus, PPV4, in Chinese swine herds. *Virology* 2010, 7, 333, doi: 10.1186/1743-422X-7-333.
11. Lau S. K., Woo P. C., Tse H., Fu C. T., Au W. K., Chen X. C., Tsoi H. W., Tsang T. H., Chan J. S., Tsang D. N., Li K. S., Tse C. W., Ng T. K., Tsang O. T., Zheng B. J., Tam S., Chan K. H., Zhou B., Yuen K. Y.: Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *J. Gen. Virol.* 2008, 89, 1840-1848, doi: 10.1099/vir.0.2008/000380-0.
12. McKillen J., McNeilly F., Duffy C., McMenemy M., McNair I., Hjertner B., Millar A., McKay K., Lagan P., Adair B., Allan G.: Isolation in cell cultures and initial characterisation of two novel bocavirus species from swine in Northern Ireland. *Vet. Microbiol.* 2011, 152, 39-45, doi: 10.1016/j.vetmic.2011.04.013.
13. Pejtsak Z.: Choroby świń. Polskie Wydawnictwo Rolnicze, Poznań 2007.
14. Shan T., Lan D., Li L., Wang C., Cui L., Zhang W., Hua X., Zhu C., Zhao W., Dehwart E.: Genomic characterization and high prevalence of bocaviruses in swine. *PLoS One* 2011, 6, e17292, doi: 10.1371/journal.pone.0017292.
15. Szelei J., Liu K., Li Y., Fernandes S., Tijssen P.: Parvovirus 4-like virus in blood products. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, 16, 561-564, doi: 10.3201/eid1603.090746.
16. Wang F., Wei Y., Zhu C., Huang X., Xu Y., Yu L., Yu X.: Novel parvovirus sublineage in the family of Parvoviridae. *Virus Genes* 2010, 41, 305-308, doi: 10.1007/s11262-010-0506-3.
17. Zhai S., Yue C., Wei Z., Long J., Ran D., Lin T., Deng Y., Huang L., Sun L., Zheng H., Gao F., Zheng H., Chen S., Yuan S.: High prevalence of a novel porcine bocavirus in weanling piglets with respiratory tract symptoms in China. *Arch. Virol.* 2010, 155, 1313-1317, doi: 10.1007/s00705-010-0698-9.

Adres autora: dr Katarzyna Podgórska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: katarzyna.podgorska@piwet.pulawy.pl