Dziki – mało prawdopodobne źródło wirusa choroby Aujeszky'ego dla świń

ZYGMUNT PEJSAK, MARIAN TRUSZCZYŃSKI*

Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, al. Adama Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

*ul. Kaniowczyków 6, 24-100 Puławy

Otrzymano 01.04.2019

Zaakceptowano 11.04.2019

Pejsak Z., Truszczyński M.

Wild boar as the unlikely source of Aujeszky's Disease virus for swine

Summary

In the introduction of this paper the virological definition of the SuHV-1, the etiological agent of Aujeszky's Disease (AD) of swine, is presented. The importance of AD as an OIE listed disease is mentioned. The gE-deleted marker vaccine in combination with differentiating infected from vaccinated swine ELISA kit is characterized. It is worth to remember that Poland in 2019 will inform the Veterinary Commission of the EU about the freedom of AD in domestic pigs. The seroprevalence of AD in wild boar is variable, from very high occurrence in Mediterranean countries to low level or not existence in Northern Europe. According to several cited authors two subtypes of ADV are existing and characterised – subtype I in wild boar, not being pathogenic for wild boar, existing also in domestic swine, and subtype II occurring in swine and being for domestic swine very pathogenic. Other genetic data connected with pathogenicity of Aujeszky's disease virus variants are also mentioned.

Keywords: wild boar, swine, Aujeszky's disease

Czynnikiem etiologicznym choroby Aujeszky'ego (Aujeszky's Disease, AD) świń domowych jest świński (*Suid*) *herpesvirus* 1 – SuHV-1, należący do rodziny *Herpesviridae*, podrodziny *Alphaherpesvirinae*, rodzaju *Varicellovirus*. Drobnoustroj ten określany jest również jako wirus choroby Aujeszky'ego (ADV). Jest chorobotwórczy dla niemal wszystkich gatunków ssaków z wyjątkiem naczelnych, w tym człowieka (8).

Świnie domowe, świnie dziczące (feral pigs) i dziki zaliczane są do wspólnego dla nich gatunku – *Sus scrofa*. Gatunek ten jako jedyny spośród licznych gatunków zwierząt wrażliwych na ADV, może przeżywać infekcję i wracać do zdrowia, co określa go mianem gospodarza (host), czyli nosiciela wymienionego patogenu, i tym samym jego rezerwuaru oraz źródła infekcji i AD.

Znaczenie AD u świń domowych okazało się w skali globalnej tak istotne, że obok innych epidemii jak np. klasyczny pomór świń (Classical swine fever – CSF) i afrykański pomór świń (African swine fever – ASF), również ta choroba została umieszczona przez Światową Organizację Zdrowia Zwierząt (OIE) na liście chorób zgłaszanych przez państwa członkowskie do OIE. Choroby tej listy („listed diseases”) obejmują gatunki zwierząt o dużym znaczeniu gospodarczym, oraz zoonozy. Choroby takie jeżeli zostaną rozpoznane w danym państwie, stają się przyczyną utraty przez to

państwo prawa do eksportu do innego kraju danego gatunku zwierząt i ich produktów; w omawianym przypadku dotyczy to świń domowych (1).

Aktualnie duża liczba krajów na świecie dzięki zastosowaniu w immunoprofilaktyce AD u świń szczepionek markerowych, z delecją genu kodującego ekspresję glikoproteiny gE (gE-deleted marker vaccines) w połączeniu z wykorzystaniem odpowiedniego zestawu ELISA – umożliwiającego serologiczne odróżnienie zwierząt zakażonych od szczepionych (DIVA), uzyskała status państwa wolnego od występowania na jego terenie tej choroby, co w konsekwencji, łączy się z zakazem szczepień przeciw AD u świń na obszarze kraju uznanego za wolny od tej choroby. Szczepienie bowiem nie wyklucza siewstwa ADV, chroniąc zakażone zwierzęta przed objawami klinicznymi choroby.

Warto wspomnieć, że w Polsce program uwalniania kraju od AD rozpoczęto w 2010 r. W związku ze skutecznym uwolnieniem krajowego pogłowia świń od AD, w 2019 r. władze weterynaryjne zgłoszą do Komisji Weterynaryjnej Unii Europejskiej oficjalną informację o uwolnieniu Polski od AD u świń domowych. W ślad za tym Komisja Weterynaryjna powinna przyznać Polsce status kraju wolnego od AD u świń.

Odnosnie do dzików, czyli potencjalnego, ale nie potwierdzonego jednoznacznie źródła AD, wykonane

w licznych krajach badania serologiczne wykazały od 2,4% do 56,25% seroreagentów w badaniu z antygenem ADV (3, 12). Cytowane wyniki wskazują, że ADV był w Europie – zależnie od kraju bardziej rozprzestrzeniony wśród dzików niż sędzono. ADV występujący u dzików mógł być przenoszony do świń przez psy myśliwskie lub dzikie zwierzęta (np. gryzonie) oraz biernie przez człowieka, w tym myśliwych biorących udział w polowaniach na dziki na ubraniu lub obuwiu. Źródłem ADV może być też krew lub narządy upolowanych dzików (14, 16).

Izolaty ADV od dzików z terenu USA i innych państw wykazały cechy typowe dla genotypu I, w tym brak chorobotwórczości lub niską chorobotwórczość dla dzików i świń (8, 10). Biorąc pod uwagę przedstawione dane potwierdzające szerokie rozprzestrzenienie genotypu I ADV wśród dzików – w licznych badaniach w tym kierunku państwach, w tym o statusie wolnych od ADV u świń domowych, należy wyrazić obawę, że rezerwuaria ADV u dzików może zagrażać utratą statusu kraju uznanego za wolny od chA u świń. Dodać należy, że kiedy kraj jest wolny od AD u świń szczepienia świń przeciw AD nie są przez UE i OIE dozwolone, o czym wspomniano wyżej. Natomiast powrót kraju do sytuacji, w której ADV występuje u świń domowych, łączy się z ponownym wprowadzeniem restrykcji odnośnie do transgranicznego eksportu świń i ich produktów (1).

Izolaty ADV uzyskane od dzików w Europie nie przedstawiały homogennego zbioru, o czym świadczą publikacje na ten temat z Niemiec, Francji, Hiszpanii i innych krajów (10). W ogólnodostępnym piśmiennictwie brak doniesień na temat infekcji świń ADV od dzików, co zdaniem Mullera i wsp. (8, 10) nie wyklucza ewentualności takich zakażeń. W nawiązaniu do tego przeglądy serologiczne w kierunku występowania ADV u dzików muszą być doskonałe, co stanowi zalecenie OIE pod adresem służb weterynaryjnych państw członkowskich (1). Zdaniem Mullera i wsp. (10) przeglądy takie stanowią akceptowalny, ale niedoskonały sposób zweryfikowania występowania lub nie występowania ADV u dzików.

Obok gospodarzy (hosts) – świni domowej, zdziaczałej i dzika, *SuHV-1* 1 wywołuje infekcje i/lub zachorowania u innych ssaków kopytnych, ssaków mięsożernych i gryzoni (6).

Poza dwiema publikacjami (8, 12) nie wykazano chorobotwórczości ADV w konsekwencji transmisji tego wirusa od dzików dla świń, przy możliwości bezobjawowego nosicielstwa u świń szczepów pochodzących od dzików. Natomiast udawały się w warunkach eksperymentalnych zakażenia i wywoływanie objawów chorobowych u świń przy użyciu ADV od dzików, zależnie od zjadliwości danego szczepu. Generalnie potwierdzono, że badane izolaty wirusa pochodzącego od dzików charakteryzowały się niską zjadliwością i należały przeważnie do genotypu I. Dodatkowo wykazano, że izolowane od świń szczepy, zaliczone do genotypu II, przeważnie były wysoce patogenne dla

świń (15). Wysunięto przypuszczenie, że dziki mogą tego rodzaju szczepy (czyli należące do genotypu II) roznosić do miejsc, w których przebywają świny domowe (12). To natomiast potwierdzałoby, że transmisja ADV z dzika na świnię domową jest możliwa (16). Powyższe potwierdzono w badaniach nielicznych autorów (8, 10, 11), podkreślając, że przeciwnie niż w przypadku genotypu I, w przypadku genotypu II przeniesienie ADV od dzików do świń jest możliwe. Niestety, nie zostało to dotychczas w sposób jednoznaczny udokumentowane.

W minionych kilku dekadach obserwowany był wzrost liczby dzików dodatnio reagujących w testach serologicznych z antygenem ADV, czyli miała miejsce rosnąca w czasie seroprevalencja, co łączy się prawdopodobnie ze zwiększającą się dynamicznie w Europie liczbą dzików. Przeglądy serologiczne w kierunku ADV u dzików wskazują na duże liczbowe zróżnicowanie wyników dodatnich, zależnie od miejsca geograficznego badań prowadzonych w Europie. Wahanie te mieszczą się w granicach 0-100% (8). Najwyższe odsetki rezultatów dodatnich pochodzą z rejonu Morza Śródziemnego, a na przykład w Holandii i Szwecji wszystkie próbki okazały się ujemne. W Polsce badania dotyczące rozprzestrzenienia się ADV w populacji dzików prowadzili Lipowski i wsp. (4, 5). Autorzy ci wykazali, że z każdym kolejnym rokiem prowadzonych badań (2011-2014) średni odsetek seroreagentów dla ADV był w Polsce wyższy. W okresie 4 kolejnych lat wzrósł on z 27,4% do 35,5%. Wspomniani autorzy dowiedli także, że wskaźnik dzików zakażonych ADV jest różny w poszczególnych regionach naszego kraju. Najwyższy był tam, gdzie gęstość populacji dzików była najliczniejsza, to jest w województwie zachodniopomorskim. W tym regionie wskaźnik ten wyniósł 42,7%.

Dotychczas w warunkach terenowych nie wykazano, aby obecność ADV w populacji dzików mogła mieć wpływ na występowanie choroby u świń. Natomiast, zauważa się rosnącą liczbę przypadków zakażeń psów – przede wszystkim myśliwskich – co ma związek z ich bezpośrednim kontaktem z dzikami zakażonymi ADV (7, 8, 14, 15). Zgodnie z danymi Moreno i wsp. (7) dzik może stanowić rezerwuaria i potencjalne zagrożenie dla psów, co wykazano m.in. we Włoszech. Próbkę od dzików uzyskano z kolejnych sezonów polowań w latach 2010-2014 (7). Charakterystyka molekularna oparta była na analizie fragmentów restrykcyjnych określonych genów, w omawianym przypadku fragmentu gC, szczepów ADV izolowanych od dzików i ich porównaniu z wynikami analizy takich samych badań wykonanych z wykorzystaniem izolatów ADV uzyskanych od psów domowych i myśliwskich oraz świń. Otrzymane wyniki wykazały wyraźne odróżnienie dwóch grup szczepów: a) od psów użytych w polowaniach, które były identyczne ze szczepami od dzików i b) szczepów od psów „podwórkowych”, które były pokrewne ze szczepami od świń domowych. Autorzy włoscy zwrócili uwagę na różnicę w sytuacji epidemiologicznej we Włoszech w porównaniu do innych krajów Europy.

We Włoszech udało się zidentyfikować dwa różne zgrupowania (clusters) szczepów izolowanych od wymienionych wyżej gatunków zwierząt. Zgrupowanie 1 obejmowało szczepy od psów myśliwskich i od dwóch dzików, natomiast w zgrupowaniu 2 znalazły się wyłącznie szczepy podobne do izolatów ADV od świń.

Badania Steinrigla i wsp. (13) wykonane w Austrii oficjalnie wolnej od ADV u świń, wykazały obecność swoistych dla SuHV-1 przeciwciał u dzików oraz u psów myśliwskich, co wskazuje na występowanie tego wirusa u wymienionych gatunków zwierząt. Wśród badanych kilkudziesięciu dzików, 30% zwierząt było serologicznie dodatnich. Natomiast, mimo wysokiej seroprewalencji, DNA omawianego wirusa stwierdzono techniką PCR tylko u kilku osobników, co może wskazywać na bardzo niską zawartość ADV w tkankach dzików lub obecność wirusa tylko w niektórych z nich lub nadczułość testu serologicznego.

W podobnej pracy Chiari i wsp. (2) z Włoch wykazano, że spośród 3260 surowic uzyskanych z ośmiu sezonów łowieckich czyli ze stosunkowo długiego okresu czasu, w 162 próbkach (4,97%) wykazano obecność swoistych dla ADV przeciwciał. Jak wynika z powyższych danych, seroprewalencja w odniesieniu do ADV jest w populacji dzików stosunkowo duża. Mimo tego brak jest jednoznacznych danych odnośnie do przypadków przeniesienia ADV z dzików na świnię; niemniej zdaniem niektórych autorów, tego rodzaju transmisji nie można wykluczyć. Pogląd ten prezentują, jako jedni z nielicznych, Muller i wsp. (9), czyli wiodący na świecie zespół badawczy w zakresie badań nad AD.

Jak wskazują na to wyniki badań, w Europie szczepy ADV u dzików stanowią głównie genotyp I, podczas gdy u świń domowych występuje genotyp I i genotyp II. Szczepy genotypu III i genotypu IV ADV występują, odpowiednio, w północnej Europie i Azji (10). Ostatnio dodatkowo wykazano, że izolaty ADV od dzika dzielą się na dwa zgrupowania (9). Zgrupowanie pierwsze obejmuje szczepy pochodzące z Europy Wschodniej, podczas gdy zgrupowanie drugie zawiera szczepy z południowo-zachodniej Europy. Oba zgrupowania tworzą mieszanek szczepów zgrupowań w Europie Centralnej (8).

Zgodnie z danymi Verpoesta i wsp. (15), analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (conventional restriction fragment length polymorphism – RFLP), genomowego DNA pozwoliła zróżnicować izolaty ADV na cztery główne typy i szereg podtypów. Jak podano wcześniej, szczepy ADV występujące u dzików należą głównie do genotypu I, podczas gdy u świń wykazywano szczepy genotypu I i II. Genotyp III i IV ADV występują odpowiednio w północnej Europie i w Azji. Stosunkowo niedawno wykazano (cyt. za 15), że europejskie izolaty od dzików dzielą się na dwa zgrupowania. Jedno zawiera szczepy pochodzące z Europy Wschodniej, a drugie szczepy z południowo-zachodniej Europy. Oba zgrupowania tworzą swego rodzaju mieszanek w Europie Środkowej (10).

Na tym tle Verpoest i wsp. (15) scharakteryzowali szczepy ADV wyisobnione w Belgii od dzików i świń domowych przy zastosowaniu RFLP w celu uzyskania ewentualnych nowych danych o szczepach ADV z terenu tego kraju i państw sąsiadujących. Wymienieni autorzy sugerują, że szczepy ADV genotypu I zostały zastąpione w ramach zmienności genetycznej, w tym ich shiftu przez genotyp II. Szczepy genotypu II (zastępujące genotyp I) pochodziły z trzech różnych regionów Belgii i należały do różnych podtypów, co sugeruje, że w przypadku szczepów belgijskich nie są one epidemiologicznie powiązane, natomiast prawdopodobnie miały miejsce shift czyli przejście genotypu I do genotypu II ADV. Wymienione przypuszczenie wymaga kolejnych potwierdzeń, ale gdyby okazało się realne, to AD mogłaby stać się ponownie ważną epidemią nawet w skali globalnej, jak to miało miejsce przy końcu XX w. W takim przypadku jedynie szczepionka delecyjna mogłaby obniżyć straty gospodarcze wywołane przez AD u świń, co wystąpiło na początku XXI w. Zdaniem autorów niniejszej publikacji bezpośrednie przeniesienie ADV z dzików na świnię jest mało prawdopodobne.

Piśmiennictwo

1. Aujeszky's disease. OIE Terrestrial Manual 2012, 1-15.
2. Chiari M., Ferrari N., Bertlett M., Avisani D., Cariolo M., Zanoni M., Alborali L. G., Lanfranchi P., Lelli D., Martin A. M., Antonio L.: Long-Term Surveillance of Aujeszky's Disease in the Alpine Wild Boar (*Sus scrofa*). *Eco Health* 2015, 12, 563-570.
3. Lipowski A.: Dzik europejski (*Sus scrofa* L.) jako rezerwuwar zakaźnych chorób świń. *Med. Weter.* 2003, 59, 861-863.
4. Lipowski A., Pejsak Z.: Antibody prevalence of Pseudorabies virus in feral pigs in Poland. *Proc. IPVS Congr., Ames (Iowa) USA 2002*, 2, 223.
5. Lipowski A., Szczotka A., Pejsak Z.: Prevalence of antibodies to Aujeszky's disease virus in wild boar in Poland, between 2011 and 2014: a retrospective study. *J. Vet. Res.* 2017, 61, 397-404.
6. Meier R. K., Ruis-Fons F., Ryser-Degiorgis M.: A picture of trends in Aujeszky's disease virus in wild boar in the Swiss and European contexts. *BMC Vet. Res.* 2015, 11, 277-280.
7. Moreno A., Sozzi E., Grilli G., Gelletti D., Selli D., Chiari M., Prati P., Alborali L., Bobiotti M., Lanza A., Cordiale P.: Detection and molecular analysis of Pseudorabies virus strains isolated from dogs and wild boar in Italy. *Vet. Microbiol.* 2015, 177, 359-365.
8. Muller T., Conraths F. J., Hahn E. C.: Pseudorabies virus infection (Aujeszky's disease) in wild swine. *Infect. Dis. Rev.* 2000, 2, 27-34.
9. Muller T., Hajn E. C., Tottewith F., Kramer M., Klupp C., Mettenleiter T. C., Fleuring C.: Pseudorabies virus in wild swine, a global perspective. *Arch. Virol.* 2011, 156, 1691-1705.
10. Muller T., Klupp B. G., Freuling C., Hoffmann B., Mojczik M., Capua J., Palfi V., Toma B., Luth W., Ruiz-Fon F., Gotarzar C., Hlinak A., Schaarsmiut U., Zimmer Z., Conraths F. J., Hahn E. C., Mettenleiter T. C.: Characterization of pseudorabies virus of wild boar origin from Europe. *Epidemiol. Infect.* 2010, 138, 1590-1600.
11. Ruiz-Fons F.: Aujeszky's disease virus infection patterns in European wild boar. *Veterinary Microbiology* 2007, 120, 241-250.
12. Sedlak K., Bartova E., Machova J.: Antibodies to selected viral disease agents in wild boar from the Czech Republic. *J. Wildlife Dis.* 2008, 44, 777-780.
13. Steinrigl A., Revilla-Fernandez S., Kolódziejek J., Wodak E., Bago Z., Novotny N., Schmoll F., Kofer J.: Detection and molecular characterization of Suid herpesvirus type 1 in Austrian wild boar and hunting dogs. *Vet. Microbiol.* 2012, 157, 267-284.
14. Szczotka-Bochniarz A., Lipowski A., Kycko A., Sell B., Ziolkowski M., Malek B.: Wild boar offal as a probable source of Aujeszky's disease virus for hunting dogs in Poland. *J. Vet. Res.* 2016, 60, 233-238.
15. Verpoest S., Cay A. B., De Regge N.: Molecular characterisation of Belgian pseudorabies virus isolates from domestic swine and wild boar. *Vet. Microbiol.* 2014, 172, 72-77.
16. Zhang L., Wang J., Lu Z., Liu L., Yang W., Lyu Y.: Pathogenesis of natural and experimental Pseudorabies infections in dogs. *Virol. J.* 2015, 12, 44-54.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 8B, 24-100 Puławy; e-mail: z@pejsak.pl