

Występowanie poodwadzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego w krajowej populacji świń

KATARZYNA PODGÓRSKA, TOMASZ STADEJEK, ANNA SZCZOTKA,
WOJCIECH KOZACZYŃSKI*, MARIAN POROWSKI**, ZYGMUNT PEJSAK

Zakład Chorób Świń, *Zakład Anatomii Patologicznej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

**Lecznica dla zwierząt, ul. Kaczyńska 26/3, 62-010 Pobiedziska

Podgórska K., Stadejek T., Szczotka A., Kozaczyński W., Porowski M., Pejsak Z.

Occurrence of postweaning multisystemic wasting syndrome in Polish pig herds

Summary

The aim of the study was to assess the occurrence of the postweaning wasting syndrome (PMWS) in Polish pig herds. Thirty-two herds were selected from 195 visited pig production sites based on the appearance of clinical lesions. The population of breeding herds ranged from 25 to 2000 sows and the percentage of losses varied from 2 to 20%. In each farm 3 pigs affected by wasting were autopsied and lymph nodes were collected. Sections of lymph nodes were examined for the presence of histopathological lesions and tested with in situ hybridization to detect the DNA of porcine circovirus type 2 (PCV2), an etiological agent of PMWS. The results were considered as positive when characteristic histopathological changes were detected along with an abundant amount of viral DNA. PMWS was recognized in 26 pigs (27.9%) from 16 farms (50%). In two of those farms PMWS was diagnosed as sporadic, based on the analysis of production parameters and low rate of losses. In 12 herds (37.5%) no pig had DNA of PCV2 in lymph nodes, while in the remaining 4 herds (12.5%) low amounts of DNA were detected in lymph nodes from at least one pig. PMWS was confirmed in all tested farms with breeding herds of more than 1000 sows, while none of the small farms with breeding herds of less than 100 sows were affected. In two other groups of farms counting 100-499 and 500-1000 sows the percentage of affected herds was respectively 33.3% and 57.1%.

The established rate of PMWS occurrence was similar to that claimed by most other European countries. Results obtained in this study suggest that the incidence of PMWS outbreaks increases with the size of the herd. A higher number of properly selected samples markedly enhances the probability of disease detection.

Keywords: porcine circovirus type 2, PMWS in situ hybridization

W okresie ostatnich 10 lat poodwadzeniowy, wielonarządowy zespół wyniszczający świń (postweaning multisystemic wasting syndrome – PMWS) stał się jedną z najważniejszych przyczyn strat w produkcji trzody chlewnej (1, 10, 13). Etiologia tej choroby ma charakter wieloczynnikowy, jednak kluczowym czynnikiem jest zakażenie cirkowirusem świń typ 2 (PCV2). Cirkowirus świń występuje powszechnie w populacji świń na całym świecie. Badania serologiczne wykazały, że blisko 100% świń ze stad zbadanych w Europie, Stanach Zjednoczonych i Kanadzie posiadało przeciwciała dla PCV2 (1, 19). Zakażenia tym wirusem stwierdza się u około 30-48% dzików (9, 17). Występując powszechnie wśród świń domowych oraz dzików, PCV2 wywołuje objawy kliniczne jedynie u części zakażonych zwierząt. Podkreślić należy, że wirus wykryto zarówno w krajach, gdzie PMWS występuje powszechnie, jak i w tych, w których dotychczas nie wyka-

zano klinicznych przypadków zespołu (12). W Polsce pierwsze ognisko PMWS rozpoznano w 2000 r. (15).

Straty na tle PMWS spowodowane są głównie wzrostem śmiertelności prosiąt, warchlaków i tuczników, wydłużeniem okresu tuczu, zwiększonym zużyciem leków wynikającym ze wzrostu częstości występowania zakażeń wtórnych (13) oraz, co niezwykle ważne, znacznym zróżnicowaniem wagowym kolejnych grup technologicznych warchlaków i tuczników, wpływającym niekorzystnie m.in. na możliwości przestrzegania w poszczególnych sektorach produkcji zasady „całe pomieszczenie pełne – całe pomieszczenie puste”. Straty związane z PMWS oceniono w krajach Unii Europejskiej na około 600 mln euro w skali roku.

Celem badań była ocena występowania PMWS w krajowych stadach świń, w których na podstawie objawów klinicznych podejrzewano występowanie tej choroby.

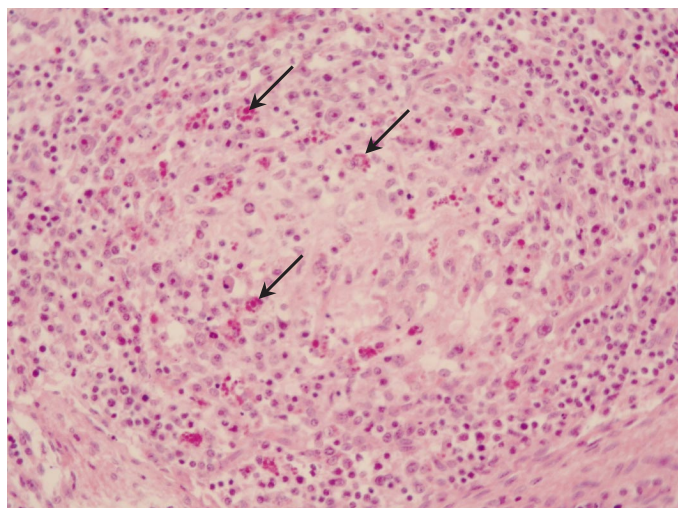
Materiał i metody

Fermy. W celu wytypowania ferm do badań w 2007 r. przeprowadzono wizyty lekarskie w 195 fermach świń, w których podejrzewano występowanie PMWS. Na podstawie wywiadu z lekarzami nadzorującymi obiekty zebrano w formie ankiety informacje dotyczące wyników produkcyjnych, stanu zdrowotnego oraz rezultatów rutynowych badań sekcyjnych i laboratoryjnych. W oparciu o uzyskane informacje do badań laboratoryjnych w kierunku PMWS wytypowano 32 gospodarstwa, w których stwierdzono występowanie objawów klinicznych wskazujących na PMWS. Wielkość stada podstawowego w wybranych do badań gospodarstwach wynosiła od 25 do 2000 loch. W zależności od liczby loch, stada podzielono na liczące: poniżej 100 loch (7 chlewni); 100-499 loch (12 gospodarstw); 500-1000 (7 obiektów) i powyżej 1000 loch (6 ferm).

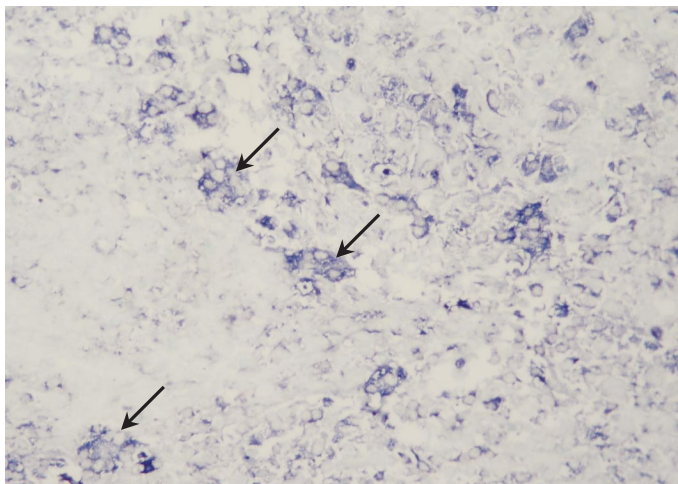
Postępowanie. W każdym z wymienionych stad do badań laboratoryjnych wybrano po trzy warchlaki w wieku od 4 do 10 tygodni życia (w 3 przypadkach badaniom poddano po 2 świnię), wykazujące kliniczne objawy PMWS, w tym wyraźne wyniszczenie organizmu, bladeść skóry oraz powiększenie pachwinowych węzłów chłonnych. Wyselekcjonowane zwierzęta poddano znieczuleniu ogólnemu, a następnie eutanazji. W trakcie badania sekcyjnego od świń pobrano po dwa węzły chłonne – pachwinowy oraz krezkowy. W sumie badaniom poddano 186 węzłów chłonnych od 93 świń.

Badania laboratoryjne. Wycinki węzłów chłonnych utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie, zatapiano w parafinie, a następnie wykonywano preparaty mikroskopowe na szkiełkach podstawowych Probe On (Fisher Scientific). Preparaty poddawano hybrydyzacji *in situ* (ISH) w celu wykrycia DNA PCV2 oraz barwieniu hematoksyliną i eozyną w celu stwierdzenia obecności zmian charakterystycznych dla PMWS (zaburzenia struktury węzła chłonnego, ubytek komórek limfoidalnych, nacieki makrofagów, obecność ciałek wtrętowych lub komórek olbrzymich).

Hybrydyzację *in situ* wykonywano przy użyciu urządzenia MicroProbe (Fisher Scientific) według wcześniej opisanej procedury (5). Po odparafinowaniu i nawodnieniu preparaty poddawano kolejno trawieniu roztworem pepsyny (Sigma), denaturacji formamidem (Sigma), a następnie hybrydyzacji ze znakowaną digoksygeniną sondą DNA specyficzną dla fragmentu genomu PCV2 (5'-/5DigN/CAG TAA ATA CGA CCA GGA CTA CAA TAT CCG TGT AAC CAT G-3') (7, 8). W kolejnym etapie preparaty inkubowano z roztworem przeciwciał dla digoksygeniny znakowanych alkaliczną fosfatazą (Anti-Digoksygenin AP Fab Fragments, Roche). Po odpłukaniu nadmiaru przeciwciał przeprowadzano reakcję barwną z roztworem substratu dla alkalicznej fosfatazy (NBT/BCIP, Roche). Inkubację prowadzono do momentu osiągnięcia wyraźnego, granatowego zabarwienia preparatu kontroli dodatniej (5-30 min). W kolejnym etapie odpłukiwano nadmiar substratu i przeprowadzano barwienie kontrastowe 1,5% wodnym roztworem barwnika Fast Green (Sigma). Następnie preparaty utrwalano etanolem, suszono, zatapiano w balsamie kanadyjskim (Sigma) i przykrywano szkiełkiem nakrywkowym. Preparaty obserwowano pod mikroskopem w powiększeniu 80 ×, 200 × i 400 ×. Obecność DNA PCV2 w badanych



Ryc. 1. Wycinek węzła chłonnego świni z PMWS barwiony hematoksyliną i eozyną. Widoczny ubytek komórek limfoidalnych i nacieki komórek zapalnych. Strzałkami zaznaczono ciała wtrętowe występujące w części przypadków PMWS. Powiększenie 200 ×



Ryc. 2. Wycinek węzła chłonnego świni z PMWS barwiony metodą hybrydyzacji *in situ*. Granatowo zabarwione precipitaty wskazują na obecność DNA PCV2. Strzałkami zaznaczono komórki olbrzymie z silnie wybarwioną cytoplazmą. Powiększenie 200 ×

próbkach oceniano na podstawie występowania granatowo zabarwionych precipitatów w cytoplazmie lub jądrach komórek.

Świnię uznawano za dotkniętą PMWS w przypadku spełnienia tzw. kryteriów Sordena (14) obejmujących: obecność objawów klinicznych, charakterystyczne zmiany mikroskopowe w węzłach chłonnych (ryc. 1) oraz obecność dużej ilości PCV2 w obrębie zmian histopatologicznych, o której świadczyło intensywne zabarwienie w teście ISH (ryc. 2).

Wyniki i omówienie

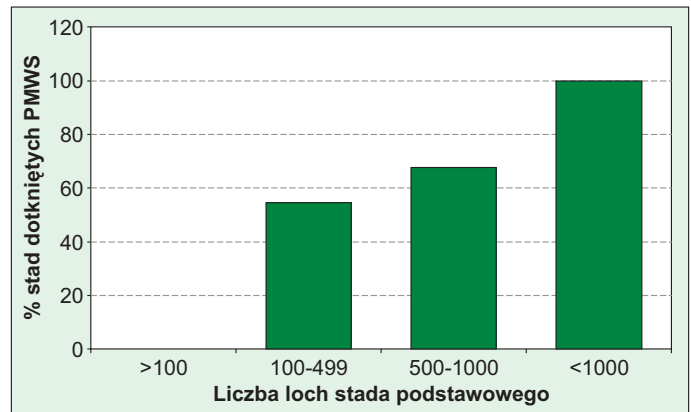
Zastosowana metoda ISH oraz badanie histopatologiczne umożliwiają wykrywanie PCV2, określanie jego ilości i powiązanie obecności wirusa ze zmianami histopatologicznymi w węzłach chłonnych. Metody te wykorzystano do badania materiału biologicznego pocho-

dzącego z 32 ferm trzody chlewnej, w których obserwowano objawy kliniczne wskazujące na PMWS. Zgodnie z wymienionymi wcześniej kryteriami Sordena, wynik badania w kierunku PMWS uznawano za dodatni jedynie w przypadku obecności charakterystycznych zmian histopatologicznych oraz intensywnego, ciemnoniebieskiego zabarwienia w teście ISH, świadczącego o dużej ilości wirusowego DNA w obrębie zmian, przynajmniej w jednej próbce z danej fermy.

Badania wykazały, że powyższe kryteria zostały spełnione w przypadku 40 próbek (21,9%) pobranych w 16 fermach (50%) od 26 świń (27,9%). W kolejnych 12 fermach (37,5%) nie stwierdzono obecności PCV2 w węzłach chłonnych u żadnej ze świń, przy jednoczesnym braku lub słabym nasileniu zmian mikroskopowych. W 4 pozostałych fermach (12,5%) przynajmniej u jednej świni stwierdzono słaby lub średni stopień zabarwienia w węzłach chłonnych w teście ISH. Świadczyło to o niskim poziomie replikacji wirusa, co zdecydowało o postawieniu negatywnego rozpoznania.

Fakt, że w 8 fermach (25%) PMWS stwierdzono tylko u jednej z kilku badanych świń sugeruje, że skuteczność metody ISH w wykrywaniu tej choroby można zwiększyć, pobierając do badań materiał od większej liczby zwierząt. Wynika to z faktu, że ilość wirusa w węzłach chłonnych nie jest wartością stałą i zmienia się w poszczególnych fazach choroby. Może być niższa w początkowym etapie infekcji i w okresie rekonwalescencji lub w stanie terminalnym (13). Wyniki te wskazują, że właściwe pobieranie próbek jest kluczowe dla prawidłowego rozpoznania PMWS. Najwłaściwsze jest pobieranie próbek od świń około dwa tygodnie po wystąpieniu objawów, ponieważ badanie materiału pobranego we wcześniejszym lub późniejszym etapie choroby może wykazać jedynie niski poziom replikacji wirusa, niewystarczający do postawienia właściwej diagnozy. Mało wartościowe, prowadzące niekiedy do uzyskania wyników fałszywie ujemnych, jest pobieranie próbek od zwierząt padłych lub będących w stanie agonalnym. Jeżeli tylko jest to możliwe, uzasadnione jest pobranie próbek od jak największej liczby chorych zwierząt.

Badania przeprowadzone w Belgii (13) wykazały, że w fermach, w których praktycznie nie obserwuje się objawów klinicznych PMWS ani strat z nim związanych, mogą występować pojedyncze świny spełniające kryteria Sordena. Może to stwarzać trudności w ocenie, czy obserwowany w stadzie PMWS jest faktycznie przyczyną strat produkcyjnych, czy występuje jedynie sporadycznie. Z tego względu obecnie proponowana definicja choroby na poziomie stada kładzie nacisk na aspekt chronologiczny oraz skalę występowania objawów klinicznych PMWS i śmiertelności po odsadzeniu. Zakłada ona, że na ostrą postać choroby w stadzie wskazuje nie tylko stwierdzenie PMWS u pojedynczych świń, ale także statystycznie istotny wzrost śmiertelności zwierząt po odsadzeniu w porównaniu



Ryc. 3. Współzależność między liczbą loch stada podstawowego a występowaniem PMWS

do wartości obserwowanej przed wystąpieniem objawów.

Poziom strat rejestrowany w badanych fermach był zróżnicowany i dotyczył od 2% do 20% warchlaków z objawami klinicznymi PMWS. Uwzględniając podane wcześniej kryteria rozpoznawania PMWS, stwierdzono, że w 14 z 16 dodatnich ferm (87,5%) śmiertelność po odsadzeniu znacznie przekraczała obserwowaną przed wystąpieniem objawów, co potwierdzało, że w obiektach tych występują straty związane z PMWS. W 2 fermach (6,25%), mimo wykazania obecności świń spełniających kryteria PMWS, stosunkowo mała skala strat wskazywała na sporadyczne występowanie przypadków choroby i jej niewielkie znaczenie w stadzie.

W grupie badanych gospodarstw stwierdzono występowanie zależności między liczbą loch stada podstawowego a występowaniem PMWS (ryc. 3). W żadnej z ferm o wielkości stada podstawowego poniżej 100 loch nie stwierdzono obecności syndromu. Z 12 stad o liczbie loch od 100 do 499 do ferm dotkniętych PMWS zaliczono 4 obiekty (33,3%); z kolei wśród 7 stad zaliczonych do kategorii 500-1000 loch 4 stada (57,1%) spełniały omówione powyżej kryteria PMWS. W grupie 6 ferm o stadzie podstawowym powyżej 1000 loch występowanie choroby potwierdzono we wszystkich przypadkach. Wyższa częstotliwość występowania PMWS w fermach wielkotowarowych wynika prawdopodobnie nie tylko z liczebności stada podstawowego, ale także wiąże się z wszelkimi konsekwencjami środowiskowymi związanymi z wielkotowarowym chowem świń. Podobną zależność zaobserwowali także Woodbine i wsp. (21) w badaniach przeprowadzonych w Wielkiej Brytanii.

Przyczyny różnic w występowaniu PMWS w populacji świń w poszczególnych krajach nie są znane. W ostatnich latach w niektórych krajach Europy Zachodniej (Francja, Belgia) obserwuje się spadek liczby nowych przypadków PMWS. Choroba ta nadal stanowi poważny, narastający problem w sektorze produkcji trzody chlewnej między innymi w Polsce, Białorusi i Czechach. We Francji, Hiszpanii, Portugalii, Włoszech, Wielkiej Brytanii, Danii, Austrii, Niem-

czes, Grecji, Irlandii i Holandii również ocenia się występowanie syndromu jako częste, a wpływ na produkcję trzody chlewnej jako poważny (11). W przypadku Belgii, Norwegii i Szwecji PMWS ma mniejsze znaczenie i występuje w stosunkowo niewielkim odsetku stad (3). W części krajów europejskich (Serbia, Czarnogóra, Bułgaria, Rumunia, Litwa), mimo rozpoznania PMWS, brakuje danych na temat rozprzestrzenienia i znaczenia choroby. W Australii natomiast, mimo powszechnego występowania PCV2 w populacji świń, nie obserwuje się klinicznych objawów tej choroby. Biorąc pod uwagę, że status zakażenia PCV2 jest wszędzie podobny, ocenia się, że wpływ na występowanie PMWS mogą mieć takie czynniki, jak: skala i organizacja produkcji, pogłowie świń, dominacja pewnych ras lub występowanie różnic w zjadliwości szczepów PCV2 (2, 4, 6, 16, 18), a także obecności innych drobnoustrojów warunkowo chorobotwórczych (20).

W Polsce w ostatnich latach liczba rozpoznanych przypadków zespołu rośnie. Może być to związane z faktycznym nasileniem problemów zdrowotnych, ale także ze wzrostem poziomu wiedzy na temat choroby wśród hodowców i lekarzy weterynarii.

Reasumując, wstępne wyniki badań sugerują, że w Polsce częstość występowania PMWS jest porównywalna do rejestrowanej w większości rozwiniętych rolniczo krajów Europy. Uzyskane wyniki potwierdzają zaobserwowaną w innych krajach europejskich korelację między prawdopodobieństwem wystąpienia choroby a wielkością stada podstawowego. Podobnie jak w przypadku innych diagnostycznych badań laboratoryjnych prawidłowe pobranie próbki oraz liczba próbek przesłanych do badania wpływają istotnie na obiektywność wyników badań laboratoryjnych w kierunku PMWS.

Piśmiennictwo

- Allan G. M., Ellis J. A.: Porcine circoviruses: a review. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, 12, 3-14.
- Lopez-Soria S., Segales J., Rose N., Vinas M. J., Blanchard P., Madec F., Jestin A., Casal J., Domingo M.: An exploratory study on risk factors for postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. *Prev. Vet. Med.* 2005, 69, 97-107.
- Meerts P., Nauwynck H., Sanches E. M., Mateusen B., Pensaert M. B.: Prevalence of porcine circovirus 2 (PCV2)-related wasting on Belgian farms with or without a history of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Flemish Vet. J.* 2004, 73, 31-38.
- Pejsak Z.: Zespół skórno-nerkowy oraz poodsadzeniowy wielonarządowy zespół wyniszczający – nowa zakaźna choroba świń. *Życie Wet.* 2000, 75 (11), 575-579.
- Podgórska K.: Opracowanie i zastosowanie metod rozpoznawania zakażeń cirkowirusem świń typ 2 (PCV2). Praca doktorska. PIWet-PIB, Puławy 2008.
- Rose N., Larour G., Le Diguerher G., Eveno E., Jolly J. P., Blanchard P., Oger A., Le Dimna M., Jestin A., Madec F.: Risk factors for porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds. *Prev. Vet. Med.* 2003, 61, 209-225.
- Rosell C., Segales J., Domingo M.: Hepatitis and staging of hepatic damage in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2. *Vet. Pathol.* 2000, 37, 687-692.
- Rosell C., Segales J., Plana-Duran J., Balasch M., Rodriguez-Arriola G. M., Kennedy S., Allan G. M., McNeilly F., Latimer K. S., Domingo M.: Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J. Comp. Pathol.* 1999, 120, 59-78.
- Ruiz-Fons F., Vicente J., Vidal D., Hofle U., Villanua D., Gauss C., Segales J., Almeria S., Montoro V., Gortazar C.: Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. *Theriogenology* 2006, 65, 731-743.
- Sanchez R. E., Nauwynck Jr. H. J., McNeilly F., Allan G. M., Pensaert M. B.: Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet. Microbiol.* 2001, 83, 169-176.
- Segales J.: Update on prevalence, severity and distribution of PMWS cases in Europe. Workshop „PCV2/PMWS: Understanding factors that impact disease expression and control” at the annual meeting of American Association of Swine Veterinarians, March 4-7, 2006, Kansas City, Missouri, USA.
- Segales J., Allan G. M., Domingo M.: Porcine circovirus diseases. *Anim. Health. Res. Rev.* 2005, 6, 119-142.
- Segales J., Rosell C., Domingo M.: Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet. Microbiol.* 2004, 98, 137-149.
- Sorden S.: Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J. Swine Health. Prod.* 2000, 8, 133-136.
- Stadejek T., Podgórska K., Kołodziejczyk P., Bogusz R., Kozaczyński W., Pejsak Z.: Pierwszy przypadek poodsadzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń w Polsce. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 297-301.
- Truszczyński M., Pejsak Z.: Poodsadzeniowy zespół wyniszczający świń. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 595-597.
- Vicente J., Segales J., Hofle U., Balasch M., Plana-Duran J., Domingo M., Gortazar C.: Epidemiological study on porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet. Res.* 2004, 35, 243-253.
- Vigre H., Baekbo P., Jorsal S. E., Bille-Hansen V., Hassing A. G., Enoe C., Botner A.: Spatial and temporal patterns of pig herds diagnosed with Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) during the first two years of its occurrence in Denmark. *Vet. Microbiol.* 2005, 110, 17-26.
- Walker I. W., Konoby C. A., Jewhurst V. A., McNair I., McNeilly F., Meehan B. M., Cottrell T. S., Ellis J. A., Allan G. M.: Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, 12, 400-405.
- Wellenberg G. J., Stockhofe-Zurwieden N., Boersma W. J. A., de Jong M. F., Elbers A. R. W.: The presence of co-infections in pigs with clinical signs of PMWS in The Netherlands: a case-control study. *Res. Vet. Sci.* 2004, 77, 177-184.
- Woodbine K. A., Medley G. F., Slevin J., Kilbride E. J., Novell M. J., Turner M. J., Green L. E.: Spatiotemporal patterns and risks of herd breakdowns in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet. Rec.* 2007, 160, 751-762.

Adres autora: dr Katarzyna Podgórska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy