

УДК 619:578.82/83:636.4(476)

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОМА ЦИРКОВИРУСА В ПАТОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ИЗ СВИНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Би Кайсюань, Красочко П.П.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Изучение частоты выявления генома цирковируса свиней 2 типа в различном патологическом материале показало его низкую распространенность в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь – 10,6%. Наиболее часто геном вируса выявлялся в паренхиматозных органах, чем в крови или сыворотке крови. **Ключевые слова:** цирковирус свиней 2 типа, геном, сыворотка крови, кровь, паренхиматозные органы.*

IDENTIFICATION OF THE CIRCOVIRUS GENOME IN PATHOLOGICAL MATERIAL FROM PIG FARMS OF THE REPUBLIC OF BELARUS

Bi Kaixuan, Krasochka P.P.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*A study of the detection frequency of the genome of circovirus type 2 in various pathological material showed its low prevalence in pig farms of the Republic of Belarus – 10,9%. Most often, the virus genome was detected in parenchymal organs than in blood or serum. **Keywords:** circovirus type 2, genome, serum, blood, parenchymal organs.*

Введение. Цирковиральная инфекция свиней (circovirus disease) – заразная болезнь, сопровождающаяся в одних случаях врожденным тремором у новорожденных поросят, а в других – синдромом мультисистемного послеотъемного истощения поросят (СПМИ). Синдром послеотъемного мультисистемного истощения является многофакторным заболеванием. Болезнь характеризуется проявлением комплекса клинических признаков, включающих потерю веса, отставание в росте, одышку, диарею, желтуху и пневмонию, нарушениями со стороны центральной нервной системы (ЦНС). В естественных условиях СПМИ чаще отмечают у поросят 6-15-недельного возраста, у которых регистрируют наибольший отход, при этом пик заболеваемости приходится на 10-недельный возраст [2].

Инфицирование свиней этим вирусом имеет широкое распространение. Антитела к цирковирису-2 (ЦВС-2) обнаружены у 53% свиней в США, 85% - Германии, 86% - Великобритании и у 92% свиней Ирландии. Источником возбудителя инфекции являются больные и латентно инфицированные животные, которые выделяют вирус с фекалиями, мочой, истечениями из носа и глаз, со слюной. Экономический ущерб, наносимый свинокомплексам болезнями, ассоциированными с ЦВС, значительный и обусловлен потерями от недополучения продукции и высокой смертностью поросят послеотъемного периода. Так, в период вспышки болезни заболеваемость поросят 8-13-недельного возраста составляет от 20-40% до 70-80%, а летальность – более 80%.

Полиорганная недостаточность, связанная с ЦВС-2, ранее известная как синдром мультисистемного послеотъемного истощения (СПМИ), или цирковироз свиней, впервые была описана в 1996 году. Чаще всего встречается у свиней в возрасте 5-15 недель и протекает с общими клиническими симптомами переменной степени тяжести, среди которых кахексия, потеря массы тела, бледность кожи, ухудшение использования корма и вторичные инфекции. В ходе заболевания могут наблюдаться также респираторные симптомы и диарея. Заболеваемость в стадах составляет около 4-30% (иногда 50-60%), а смертность колеблется на уровне 4-20% [8].

Легочная форма цирковироза отмечается у подсосунков и свиней на откорме. Диагностические критерии заболевания: нарушения дыхания, микроскопические изменения в легких (интерстициальное воспаление или бронхопневмония с лимфоцитарными или гистиоцитарными инфильтратами и гранулематозными изменениями, гиперплазия околобронхиальной ткани, бронхиолит или некротическое воспаление легких) и обнаружение от умеренного до большого количества вирионов ЦВС-2 в легких [3, 7].

Воспаление кишечника, связанное с ЦВС-2, в настоящее время называется кишечной формой цирковироза. Заболевание диагностируется при появлении диареи, гранулематозного воспаления кишечника и исчезновения лимфоцитов в пейеровых бляшках. Вирионы ЦВС-2 в количестве от умеренного до большого присутствуют в слизистой оболочке кишечника и в пейеровых бляшках [6].

Считается, что репродуктивная форма цирковироза встречается редко. Проблемы в основном проявляются поздними абортами, рождением мертвых поросят или муффицированных

плодов. Заболевание встречается, как правило, на новых фермах, заселяемых свинками с высоким статусом здоровья, чувствительными к заражению ЦВС-2 [9].

Значение внутриматочных инфекций ЦВС-2 не до конца изучено. Исследования Сидлер и др. (2016) показали наличие латентного заражения ЦВС-2 плодов. Вирус обнаруживался в тимусе, лимфоидной ткани и в печени. Не выявлено влияния вакцинации свиноматок на уровень заражения плодов. По словам авторов, ранняя инфекция, встречающаяся до развития Т-лимфоцитов в вилочковой железе, может иметь существенное значение в патогенезе заболеваний, вызываемых ЦВС-2. Исследования Dvogak и др. (2013) показали, что инфекция ЦВС-2 у поросят не зависит от уровня вирусемии и иммунитета свиноматок, их вакцинации и состояния здоровья стада.

ЦВС-2 является одним из возможных этиологических факторов синдрома дерматита и нефропатии поросят. Это заболевание с признаками повышенной чувствительности III типа поросят, подсвинок и свиней на откорме с заболеваемостью менее 1%. Смертность может достигать 50% у свиней до 3 месяцев и даже 100% – у свиней старшего возраста. Характерным для заболевания является возникновение темно-красных узелков и пятен, расположенных преимущественно на задних конечностях и в области промежности, а также повреждение почек [1, 5].

Однако, принимая во внимание все существующие данные, можно заключить, что самой распространенной формой проявления ЦВС-2 является субклиническая инфекция как на сегодняшний день, так и в прошлом. И, наконец, необходимо помнить, что даже на сильно пораженных ЦВС-2 фермах у большинства свиней обнаруживается субклиническая инфекция, а не само заболевание.

В настоящее время, в результате повсеместного применения вакцинации, уменьшающей значение острых проявлений, все большую роль играют бессимптомные формы. Считается, что они без явных клинических симптомов, при отсутствии или минимальных гистопатологических изменениях и небольшом количестве ДНК ЦВС-2 в тканях и крови, могут в различной степени снижать привесы. Предполагается, что заражение ЦВС-2 может снижать эффективность вакцинации от РРСС и увеличивать восприимчивость животных к инфекциям (Alasorn и др., 2013).

В связи с широким применением вакцин против цирковируса 2 типа [4] абсолютное большинство животных серопозитивно, что делает серологическую диагностику малоприменимой: наличие антител не указывает на инфицирование, а выявление сероконверсии проблематично ввиду наличия фонового уровня антител. В связи с этим ученые и практики склоняются к использованию полимеразной цепной реакции для диагностики цирковироза свиней, в том числе и количественной ее модификации.

Целью настоящей работы явилось изучение наличия генома цирковируса 2 типа в патологическом материале от свиней и поросят в различных свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в лаборатории биотехнологии научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ и кафедре эпизоотологии и инфекционных болезней УО ВГАВМ.

В качестве исследуемого материала использовали патологический материал: кровь, сыворотка, кусочки паренхиматозных органов от свиней и поросят.

Для выделения ДНК цирковируса свиней 2 типа использовали коммерческие наборы для выделения нуклеиновых кислот: «Рибо-Преп», «Рибо-Сорб» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ), «АртДНК», «АртРНК Эксперт», «АртДНК MiniSpin Эксперт» (ООО «АртБиоТех», РБ).

Для выявления генома цирковируса 2 типа использовали коммерческие наборы: «Тест-система для обнаружения цирковируса свиней II типа методом полимеразной цепной реакции в реальном времени» (ООО «Ветбиохим», РФ) и «ГенТест ЦВС-2» (ООО «ПЦР технологии», РБ).

Обнаружение генома цирковируса 2 типа вируса проводили в соответствии с инструкциями по применению диагностических наборов.

При исследовании крови или сывороток крови предварительных манипуляций не проводили, и использовали их непосредственно для выделения ДНК. При исследовании паренхиматозных органов готовили 10% суспензии на стерильном физиологическом растворе, используя гомогенизатор «BioGen PRO200» (США).

ПЦР ставили с использованием амплификатора в «реальном времени» «RotorGene 3000». Учет реакции проводили в соответствии с инструкциями к диагностическим наборам.

Результаты исследований. Выявление генома проводили в патологическом материале из 8 свиноводческих хозяйств в 2017 году (Витебская - 2, Гомельская - 2, Минская - 2, Могилевская - 2), 8 хозяйств – в 2018 году (Витебская - 2, Гомельская - 4, Могилевская - 2) и 5 хозяйств – в 2019 году (Витебская - 1, Минская - 1, Могилевская - 3). Всего было проанализировано 193 пробы патологического материала.

Распределение положительных проб в зависимости от области и года отражено в таблице 1.

Таблица 1 – Количество положительных проб на наличие генома цирковируса 2 типа

Год	Область	Количество положительных проб	Всего проб
2017	Витебская	3	29
	Гомельская	2	15
	Минская	0	26
	Могилевская	1	6
2018	Витебская	0	28
	Гомельская	1	49
	Могилевская	0	19
2019	Витебская	0	2
	Минская	0	5
	Могилевская	14	19
Всего:		21	198

Как видно из таблицы 1, количество положительных проб достаточно низкое и составляет 10,6% от общего количества исследованного материала. Такая ситуация во многом обусловлена системой профилактики цирковиральной инфекции в Беларуси. С момента подтверждения первого случая цирковируса в нашей стране прошло более 10 лет, и после этого практически в каждом свиноводческом хозяйстве регистрировались случаи данной болезни. Поэтому в настоящее время абсолютное большинство хозяйств проводят специфическую профилактику по данному направлению. Несмотря на то, что вакцинация не обеспечивает стерильного иммунитета, она позволяет значительно снизить количество клинических проявлений болезни, вероятность заражения восприимчивых животных, а также уменьшить интенсивность вирусывыделения от животных-вирусоносителей.

Эффективность диагностических мероприятий во многом зависит от правильности выбора патологического материала для исследований. Попадая в организм животного, вирус размножается в основном в клетках лимфоидной ткани (тимусе, селезенке, л/узлах), а также слизистой оболочке носа, легких; тонком кишечнике, печени, почках, поджелудочной железе и ассоциируется с макрофагами/моноцитами, гистиоцитами, тимусными макрофагами. При остром течении болезни и при виремии цирковирус 2 типа выявляется и в крови. Идентификация клеток, в которых происходит репликация ЦВС-2, до сих пор является предметом научных споров. Большое количество антигена вируса ЦВС-2, обнаруженного в макрофагах и дендритных клетках больных свиней, что, по-видимому, является результатом накопления вирусных частиц. Тем не менее основной мишенью для репликации вируса принято считать эпителиальные и эндотелиальные клетки и в меньшей степени – макрофаги и лимфоциты. Однако в настоящее время преобладает субклиническая форма течения болезни, при которой виремия может наблюдаться очень непродолжительное время, что делает кровь и сыворотку крови мало значимой для диагностики. Проведенные нами исследования подтверждают этот факт. В таблице 2 приведены данные по выявлению генома цирковируса 2 типа в различном патологическом материале.

Таблица 2 – Выявление генома цирковируса 2 типа в патологическом материале

Вид материала	Всего проб	Количество положительных проб	Процент положительных проб, %
Кровь/ сыворотка крови	113	7	6,2
Паренхиматозные органы	85	14	16,5

Полученные результаты показывают, что в условиях сложившейся эпизоотической ситуации по цирковиральной инфекции свиней и проводимых профилактических мероприятий в Республике Беларусь паренхиматозные органы являются более предпочтительным материалом для выявления генома цирковируса 2 типа – при их использовании для диагностики процент выявления составляет 16,5%, в то время как использование крови или сыворотки крови – только 6,2%.

Заключение. Широкое применение средств профилактики цирковиральной инфекции свиней 2 типа привело к значительному снижению частоты выявления генома данного вируса в патологическом материале. Количество выявленных положительных проб составило 10,6%, причем геном чаще выявлялся в паренхиматозных органах (16,5%), чем в крови и сыворотки крови (6,2%).

Литература. 1. Дрю, Т. Синдром мультисистемного послеотъемного истощения, дерматит и синдром нефропатии : роль цирковируса свиней в их этиологии / Т. Дрю // Пробл. инфекц. патологии свиней : материалы XII Междунар. московского конгр. – М., 2005. – С. 22–29. 2. Инфекционная патология животных : в 2 т. / под ред. А. Я. Самуйленко [и др.]. – М. : ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 2. – 807 с. 3. Орлянкин, Б. Г. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин // Актуальн. пробл. инфекц. патологии и иммунологии животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – М., 2006. – С. 135–139. 4. Средства специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота и свиней / П. А. Красочко [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 368 с. 5. Choi, C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephropathy syndrome by double-labeling technique / C. Choi, C. Chae // Vet. Pathol. – 2001. – Vol. 38, N 4. – P. 436–441. 6. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs / J. Kim [et al.] // Can. J. Vet. Res. – 2004. – Vol. 68. – P. 218–221. 7. Kim, J. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex / J. Kim, H.-K. Chung, C. Chae // Vet. J. – 2003. – Vol. 166. – P. 251–256. 8. Olvera, A. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality / A. Olvera, M. Cortey, J. Segales // Virology. – 2007. – Vol. 357. – P. 175–185. 9. Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field / J. Ellis [et al.] // Vet. Microbiology. – 2004. – Vol. 98. – P. 159–163.

Статья передана в печать 31.01.2020 г.

УДК 619:615.322:616.995.132

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕНИАНТА ПРИ БАЛАНТИДИОЗЕ ПОРОСЯТ

Горлова О.С., Ятусевич А.И.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Применение препарата «Мениант» обеспечивает высокую профилактическую эффективность при балантидиозе поросят. Восстанавливает клиническое состояние больных поросят, улучшает рост и развитие молодняка свиней и приросты их массы тела. **Ключевые слова:** вахта трехлистная, поросята, мениант, балантидии, кровь, биохимические показатели, профилактика.*

PREVENTIVE EFFICIENCY OF THE MENIANT FOR BALANTIDIOSIS OF PIGS

Horlova O.S., Yatusевич A.I.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The use of the drug Menianta provides high prophylactic efficacy in case of balanantiosis of piglets. It restores the clinical condition of sick piglets, improves the growth and development of young pigs and their weight. **Keywords:** Menyanthes trifoliata L., piglets, meniant, balantidia, blood, biochemical parameters, prevention.*

Введение. Анализ литературных источников и опыт практической ветеринарной медицины свидетельствует о больших возможностях использования растений для лечения и профилактики паразитарных болезней [1, 7, 9]. В Республике Беларусь многие годы уделяется большое внимание изучению антигельминтных и инсектоакарицидных свойств лекарственных и кормовых растений [2, 5, 6, 8, 10]. При этом с каждым годом знания о противопаразитарных свойствах растений постоянно расширяются [4], что обусловлено стремительным развитием генно-инженерных знаний, биотехнологии и нанобиотехнологии. В системе профилактики балантидиоза, наряду с санитарно-гигиеническими мероприятиями, важное место занимает химиопрофилактика [10]. В 80-90-е годы предпринимались попытки внедрить в производство вакцину против балантидиоза, однако по ряду причин она не нашла широкого применения в практике работы свиноводческих хозяйств.

Материалы и методы исследований. Для профилактики балантидиоза нами разработан препарат «Мениант» на основе листьев вахты трехлистной (90%), лактулозы (5%) и янтарной кислоты (5%). Сбор растительного сырья проводили во время и после цветения растения. Вахта трехлистная в своем составе содержит горькие гликозиды, алкалоид генцианин, флавоновые гликозиды (рутин и гиперозид), витамин С, холин, линолевые и пальмитиновые жирные кислоты, дубильные вещества и др. [2, 4]. Препарат готовили путем измельчения сухих листьев вахты трехлистной до порошкообразной формы с добавлением остальных ингредиентов и тщательным их перемешиванием.

Исследование фекалий проводили по Дарлингу и методом нативного мазка.

Результаты исследований. Работа проведена на поросятах в клинике кафедры паразитологии и инвазионных болезней учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». В последующем для выяснения профилактических свойств препарата «Мениант» нами был проведен опыт на свиноферме «Подбе-