

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Ситюк М.П., Байдалюк В.А., Ничик С.А.,
Розумнюк А.В., Галка І. В., Шапошнік В.М.,
Фурда І.Л.

Цирковірусні інфекції

Київ
Аграрна наука
2017

УДК 636.09:616.98:578.82/.83

ББК 48.4

Ц 68

*Рекомендовано до друку вченою радою Національного університету біоресурсів
та природокористування України від 22.11.2017 р. (протокол № 4)*

Рецензенти:

О. Є. Айшпур

доктор ветеринарних наук

(Інститут ветеринарної медицини НААН);

А. П. Герілович

доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН України
(ННЦ «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини»)

Цирковірусні інфекції / М. П. Ситюк, В. А. Байдалюк, С. А. Ничик,
А. В. Розумнюк, І.В. Галка, В.М. Шапошнік, І.Л. Фурда. – К.: Аграр. наука,
2017. – 128 с.

ISBN 978-966-540-457-6

У виданні описано епізоотологічні особливості, клінічні ознаки, патолого-анатомічні зміни, діагностику та заходи профілактики з цирковірусної інфекції.

Розраховано на широке коло фахівців ветеринарної медицини, епізоотологів, наукових працівників, викладачів і студентів сільськогосподарських та ветеринарних вишів, які цікавляться проблемами вірусної патології домашніх свиней.

УДК 636.09:616.98:578.82/.83

ББК 48.4

ISBN 978-966-540-457-6

© М. П. Ситюк, В. А. Байдалюк,
С. А. Ничик, А. В. Розумнюк,
І.В. Галка, В.М. Шапошнік,
І.Л. Фурда 2017

© Державне видавництво
«Аграрна наука» НААН, 2017

Зміст

Вступ	5
1. Історична довідка	6
2. Характеристика збудника	9
2.1. Вірусні білки	12
2.2. Філогенетична спорідненість ізолятів ЦВІС в різних географічних зон	12
2.3. Виділення та культивування	14
2.4. Генетична варіабельність геномів цирковірусів свиней	16
2.5. Репродукція ЦВІС	17
2.6. Чутливість клітин до зараження ЦВІС-2 в умовах <i>in vivo</i>	18
2.7. Культивування ЦВІС-2 <i>in vitro</i>	19
3. Поширення та патогенність ЦВІС-1 і ЦВІС-2	21
3.1. Поширеність ЦВІС в господарствах України	25
4. Епізоотологічні особливості	26
5. Патології, зумовлені ЦВІС	33
5.1. СМВП	33
5.1.1. Епізоотологія	33
5.1.2. Патогенез	36
5.1.3. Клінічні ознаки	40
5.1.4. Експериментальна інфекція СМВП	42
5.1.5. Патолого-анатомічні зміни	44
5.2. Дерматит і синдром нефропатії поросят	46
5.3. Інфекційні вроджені тремори (ВТ) або конгенітальний тремор (КТ)	48
5.4. Проліферативно-некротизуюча пневмонія свиней (ПНПС)	49
5.5. Комплекс респіраторних хвороб свиней (КРХС)	50
5.6. Порушення репродуктивної функції	51
5.7. Змішані інфекції	53
6. Цирковірус людини	54
7. Діагностика цирковірусної інфекції свиней	56

8. Диференційний діагноз	65
9. Особливості імунітету	66
10. Лікування	69
11. Заходи боротьби з ЦВС-2	70
11.1. Вакцини	71
11.2. Механізми захисту та критерії ефективності вакцин проти ЦВІС	74
11.3. Контроль імуногенності вакцини	77
11.4. Оцінка ефективності вакцинації	80
11.5. Порівняльна ефективність двох комерційних вакцин проти ЦВС-2	83
12. Імуномодулятори	88
12.1. Імуномодулятори та специфічні сироватки за лікування СМВП	88
12.2. Дія імуномодуляції на клінічні та патологічні прояви СМВП	91
Додатки	97
Використана література	105

Вступ

Найбільшу епізоотологічну проблему в сучасному свинарстві становить синдром мультисистемного виснаження відлучених поросят (СМВП, *англ.* PMWS). Етіологічним агентом СМВП є цирковірус 2-го типу (ЦВС-2). СМВП пов'язують з синдромом дерматиту й нефропатії, із деякими репродуктивними порушеннями і вродженим тремором. Цирковіроз є одним із основних збудників комплексу респіраторних захворювань свиней і проліферативно-некротизуючих пневмоній.

На сьогодні ЦВС-2 є у біквітарним збудником. У США ця інфекція на другому місці за поширенням, а в Євро-союзі збитки через цирковірусну інфекцію становлять приблизно у 600 млн євро на рік. Втрати від цирковірусу оцінюють через: загибель поросят на етапах дорощування та відгодівлі; недоотримання приросту маси поросят, що відстають у рості; за патології репродукції; активне використання антибіотиків для контролю за бактеріальними коінфекціями.

Цирковірусна інфекція свиней (ЦВІС) – це висококонтагіозне вірусне захворювання свиней, спричинене цирковірусом, характеризується виснаженням, пневмонією, загальною лімфаденопатією, відставанням у рості, ураженням шкіри, жовтухою та діареєю.

1

Історична довідка

Уперше цирковірус був описаний у 1974 р. як пікорнавірусподібний контамінант хронічно інфікованої перещеплюваної лінії клітин нирок поросят «РК-15» з Американської колекції культур клітин ATCC- CCL33 (Tischer I., et. al., 1974). У 1982 р. в організмі хворих і здорових свиней та сама група дослідників виявила цирковірус, що генетично відрізнявся від зазначеного контамінанта клітинних культур (Tischer I., et. al., 1982). Це стало підставою для розділення цирковірусів свиней на 2 генотипи – ЦВС-1 (контамінант клітинних культур) та ЦВС-2 (вірус, виділений від свиней). Дослідженнями архівних зразків сироваток крові наявність ЦВС-2 відстежена аж до 1969 р. у Бельгії [17, 79], до 1970 р. у Великобританії [17, 80], до 1973 р. в Ірландії [17, 81], до 1985 р. у Канаді [17, 82] та в Іспанії [17, 83]. Усі 115 досліджених архівних зразків сироваток крові з бельгійських боєнь (з відібраних 50 від 1969 р., 50 від 1975 р., 50 від 2000 р.) у непрямому імунопероксидазному методі (ІРМА) були позитивними на антитіла проти ЦВС-2, проте серопозитивність не була пов'язана з будь-якою патологією [17, 84].

Перші відомості про патогенний цирковірус свиней з'явилися у 1991 р., коли в Канаді було виявлено нове захворювання – синдром мультисистемного виснаження відлучених поросят (Allan G.M., 1993, 1994; Ellis J., 1993, 1991; Krakowka S., 1993). Цю хворобу спостерігали у поросят 6–14-тижневого віку, що супроводжується виснаженням, задишкою, діареєю, жовтяничністю шкіри (Steven-son G.W. et al., 2001; Kiupel M., 1999, 2001; Kennedy S., 1998; Harding 1993, 1998; Harms P., 1999). У 1998 р. новий патогенний ЦВС був виділений із тканин відлучених поросят з використанням вільної від контамінації ЦВС-1 перещеплюваної клітинної лінії РК-15 (Ellis J., 1998, G.M. Allan, 1998). G.M. Allan, B. Meehan, D. Todd, F. McNeilly довели антигенні та генетичні відмінності но-

вого ізолюваного ЦВС від відомого контамінанта клітинних культур і позначили його як цирковірус свиней тип 2 [23].

У 1997 р. доктор Clark виділив 2-й тип цирковірусу від поросят, хворих на шкірно-нефропатичний синдром (Porcine Dermatitis Nephropathy Syndrome, PDNS), який проявлявся специфічним дерматитом поросят переважно групи дорощування, а також розладами обміну речовин у результаті ураження нирок та серця у підсисних поросят і свиней старших технологічних груп. Отже, на початку XXI століття було доведено, що в етіології PMWS та PDNS ключову роль відіграє свинячий цирковірус 2-го типу [17, 85, 86]. Проте на інокуляцію виділених штамів ЦВС-2 за віварних умов чутливі свині реагували типовими для PMWS ознаками лише на тканинному рівні (за патогістологічними змінами). Клінічно хвороба у них, у кращому разі, виявлялася лише у стертій формі [17, 87–91]. Ці та інші літературні джерела кінця XX – поч. XXI століття засвідчили про існування додаткових етіологічних факторів, необхідних для клінічного вияву PMWS. У 1999–2000 рр. одразу кількома групами дослідників було відтворено важку клінічну форму PMWS на більшості свиней, заражених змішаною інфекцією ЦВС-2 та ПВС (Allan G.M., et al., 1999; Ellis J., et al., 1999; Kennedy S., et al., 2000; Krakowka S., et al., 2000). Це дало можливість остаточно переконатися в етіологічній ролі ЦВС-2, а отже на засадах тріади Коха поставити остаточної діагноз на ЦВС-2 у країнах ЄС та Америки [17, 92].

В Європі першою країною, яку спіткали проблеми пов'язані з PMWS, була Франція [17, 93], а вже з 1999 року це захворювання стало однією з найбільших проблем для переважної частини свиноферм у країнах Євросоюзу. Особливо великі втрати від спалаху PMWS були в Нідерландах [17, 94]. У Польщі, як і в інших європейських країнах, хвороба поширювалась повільно, але безупинно, – незважаючи на жорсткі протиепізоотичні заходи польської ветеринарної служби. Перші вогнища захворювання було зареєстровано на свинофермах західної частини країни. Нині хвороба спостерігається також у центральних та східних областях Польщі [5, 17]. Упродовж останніх 10 років цирковірусну інфекцію свиней зареєстровано практично у всіх країнах Америки, Європи й Азії з розвиненим промисловим свинарством, зокрема – у сусідніх з Україною країнах [17, 95–97], звідки останні 20 років завозився племінний матеріал для свинарства.

Першу вакцину проти ЦВС-2 було розроблено у 2006 р. у США, яка дає можливість знизити економічні втрати серед свинопоголів'я, ураженого цирковірусною інфекцією [17, 103]. За останні 5 років кількість зареєстрованих у світі різноманітних вакцин проти цієї хвороби зростає до 11 [17, 103]. Широке застосування цих вакцин у світовому свиноводстві на перший план висунуло проблему вакцинопрофілактики ЦВІС, пов'язану з мінливістю збудника, зокрема його протективних антигенів [17, 81, 104, 105].

В Україні проводилися нерегулярні моніторингові дослідження щодо вивчення поширення ЦВІС у товарному свиноводстві на основі серологічних та молекулярно-біологічних методів (Герилевич А.П., 2007; Собко Ю.А., 2010). Проте досліджень з вивчення вірулентності українських варіантів збудника для свині і відповідно обґрунтування остаточного діагнозу на ЦВІС на засадах тріади Коха в Україні досі не проведено. Тобто діагноз на ЦВІС, незважаючи на ознаки істотного поширення її серед вітчизняних свиного господарств за даними серологічних та молекулярно-біологічних досліджень, в Україні ще й досі не встановлено. Крім того, на сьогодні не існує вітчизняних засобів для вакцинопрофілактики ЦВІС. Водночас у країні регулярно реєструються імпортовані вакцини проти ЦВІС, однак їхня імуногенність щодо варіантів збудника, які циркулюють в Україні, не вивчається (Блоцька О.Ф., 2008).

2

Характеристика збудника

Збудником є ДНК-вмісний вірус, який згідно з класифікацією, належить до роду *Circovirus* родини *Circoviridae* [4, 6, 14, 17]. Міжнародний комітет з таксономії вірусів виділив цирковіруси в окрему родину, яка містить вірус голубів (columbid circovirus), канарейок (canary circovirus), гусей і качок (goose and duck circovirus), великої рогатої худоби (bovine circovirus) та вірус хвороби дзьоба оперення папуг (ВХДОП) (beak and feather disease virus) [23] [4, 9, 17, 106–108]. Крім роду *Circovirus* до родини *Circoviridae* належить рід *Gyrovirus*, єдиним представником якого є вірус анемії курчат (chicken anemia virus) і рід *Anellovirus*, у складі якого є ТТ-вірус (*Torque teno virus*) [23].

Важливою біологічною властивістю цирковірусів є їхня моногостальність (тобто зарахування до спектра біологічних господарів лише одного біологічного виду тварин) або обмеженість кола біологічних господарів, переважно пташиними видами [17, 94]. Загальною властивістю цирковірусів є також лімфотропність і пов'язана з цим особливість цирковірусних інфекцій – субклінічний перебіг більшості з них. Дуже важливою характеристикою усіх без винятку цирковірусів тварин (і птиці) є їх імуносупресивність, тобто здатність за рахунок ураження певних клітин імунної системи зумовлювати її загальне пригнічення [17, 88]. Філогенетичний аналіз ЦВС-1, цирковірусів птиці та геміні- й нановірусів рослин показав найтісніший генетичний зв'язок ЦВС-1 з цирковірусом кострубатості пир'я птиці (BFDV) і відповідно його проміжне становище між геміні- та нановірусами рослин [17, 109]. Більше того, є припущення, що ЦВС-1 та BFDV можуть походити від рослинного нановірусу, який інфікував невідомий вид хребетного і в його популяції рекомбінував з РНК-вмісним вірусом хребетних, подібним до каліцивірусу [17, 101].

Віріони ЦВС-2 маленькі за розмірами (15–24 нм у діаметрі), мають ікоседричний тип симетрії (за даними Малооголовкіна С.А., 2004). Капсид складається із 32 капсомерів. Ліпідів і вуглеводів у складі віріонів не виявлено. Тому цирковіруси стійкі до розчинників ліпідів, але руйнуються за температури 60°C і більше впродовж 30 хв [17, 87, 103, 110]. Це також визначає стійкість збудника до різних дегенерантів і дезінфікувальних речовин. Плаваюча щільність вібріонів у CsCl становить 1,33–1,36 г/см³.

Геном цирковірусів являє собою односпіральну кільцеву ковалентно-замкнену молекулу мінус – ДНК завдовжки 1760–2319 нуклеотидів [17, 42, 154]. Реплікація вірусної ДНК відбувається у ядрі після завершення стадії мітозу й залежить від білків клітин – господаря [17, 93, 111].

Нині відомо два типи цирковірусу свиней: PCV-1 і PCV-2, які істотно розрізняються за генетичними та антигенними характеристиками, але організація їхнього геному однакова. Геномна одно-спіральна кільцева ДНК має дві основні з 11 згоданих відкритих рамок зчитування (ORFs) – ORF1 та ORF2. ORF1 геному збудника містить 942 нуклеотиди і кодує два протеїни, що забезпечують реплікацію вірусної ДНК [17, 98] (рис.1). Довжина ORF2 збудника – 2 699 нуклеотидів, вона кодує головний капсидний білок із 233 амінокислот, який є протективним антигеном і єдиним структурним поліпептидом вірусу [17, 112]. ORF2 більше варіабельна за ORF1 та ORF3. ORF3, своєю чергою, має молекулярну масу 11,8 кД. Нещодавно її було визначено як ділянку геному, що відповідає за патогенез інфекції у мишей [17, 113]. У віріонів цирковірусу свиней та курчат виявлено один антигенно споріднений поліпептид з молекулярною масою 36–50 кД.

Молекулярно-біологічними дослідженнями ЦВС-2, проведеними за останні 15 років, встановлено значний рівень генетичної варіабельності ізолятів збудника, виділених у різних географічних регіонах [17, 114–117] – навіть однієї країни. На цій підставі у 2007 р. запропоновано класифікаційну систему, в якій вивчені ізоляти й штами ЦВС-2 поділено на 2 генотипи (1-й та 2-й) і 8 кластерів (1А–1С та 2А–2Е) [17, 62]. Генетичне розмаїття збудника підтверджується антигенною неоднорідністю його головно-го капсидного протеїну [17, 103]. Проте це розмаїття стосується лише імунологічних характеристик збудника: до сьогодні не

встановлено зв'язку між послідовністю гена капсидного протеїну та патогенністю штамів ЦВС-2 [17, 80, 96, 116, 119, 120]. Однак ще у 2005 р. було встановлено відмінності між штамми ЦВС-2, що походять від тварин з різними клінічними формами ЦВІС, за репродуктивною активністю у культурі клітин [17, 121]. Штами, ви-ділені від свиней з проявами синдромів виснаження (PMWS) та шкірно-ниркового (PDNS), розмножувалися значно швидше та активніше за штамми, що походили від свиней з репродуктивними розладами. Нещодавно було продемонстровано, що штам ЦВС-2, який походив від свиней, уражених PMWS, за вірулентністю значно відрізняється від ізоляту, виділеного від субклінічно інфікованої тварини з того самого епізоотичного осередку ЦВІС. Істотні розбіжності за характером серологічного профілю, розмноження вірусу, клінічного прояву інфекції між різними ізолятами ЦВС-2 були показані у 2006 р. в перебігу постановки біопроб на поросятах, вільних від патогенної мікрофлори [17, 122].

У 2008 р. група бельгійських дослідників, на основі реакції нейтралізації з використанням моноклональних антитіл, вперше показала антигенне розмаїття протективного антигену у штамів ЦВС-2 різного походження [17, 123]. Було досліджено 7 штамів, що належать до обох генотипів збудника і спричиняли різні синдроми ЦВІС у різних країнах Європи та Америки: виснаження чи PMWS (штам 2-го генотипу «Stoon 1010» та штамми 1-го генотипу «48285», «1206», «VC2002»), шкірно-нирковий чи PDNS (штам 1-го генотипу ЦВС-2 «1147»), а також аборти (штами 2-го генотипу «1121» та «1103»). Майже всі 11 видів моноклональних антитіл проти протективного антигену штаму «Stoon 1010» на 51–98% нейтралізували штамми «Stoon 1010» та «48285», на 30–61% – штамми «1206» та «1103» і майже зовсім не нейтралізували штамми «1206», «VC2002», «1147» та «1121». Комбінуванням імунопероксидазного методу на основі використання низки моноклональних антитіл з секвенуванням гена капсидного протеїну авторам вдалося встановити явище генетичної неоднорідності штамів «1206» та «VC2002»: у складі їхніх матричних розплодів знайдено субпопуляції віріонів 1-го генотипу (до 99%) та 2-го генотипу (до 1%) ЦВС-2.

Наведені вище дані свідчать про значну антигенну мінливість ЦВС-2 – біологічну властивість, яка дуже істотно впливає на протиепізоотичні та біотехнологічні підходи у регуляції ЦВІС.

2.1. Вірусні протеїни

У геному ЦВС-2 відсутні міжгенні області. У геномі вірусу визначено чотири, за даними одних дослідників (Allan G.M., 1996; Buhk H.J. et al., 1988; Huedepohl B., Thacker B., 1998; Mankertz J. et al., 1997), за даними інших дослідників (Mankertz A. et al., 1993; Meehan B.M. et al., 1997) – п'ять мінорних, що частково перекривають ORF, з потенціалом кодування білків понад 5кД. Експериментально підтверджено, що ORF1 кодує білок, який бере участь у реплікації ЦВІС (Mankertz A. et al., 1998). Продукт клонованого гена ORF1 каталізує реплікацію плазмиди *por1* 1, яка має область початку реплікації ДНК цирковірусу свиней, але сама не реплікується в незаражених клітинах нирки поросяти. Очевидно, що цей білок відіграє істотну роль у реплікації ЦВІС (Mankertz A. et al., 1998) [20].

ORF2 цирковірусу свиней другого типу має довжину 600 нуклеотидів і кодує капсидний білок з 233 амінокислот (Nawagitgul P. et al., 2000).

Припускається, що ORF2 кодує головний капсид білка й містить консервативну послідовність основних амінокислот на N-кінці, східну з послідовністю основного структурного білка вірусу анемії курчат. На даний момент, не всі структурні білки ЦВС-2 ідентифіковані.

В очищених препаратах ЦВС-2 був ідентифікований вірусний структурний білок з молекулярною масою 30 кД (Nawagitgul P. et al., 2000). ORF2 вірусу була клонована в бакуловірусний експресуючий вектор, після чого, генний продукт синтезувався в клітинах комах. Отриманий генний продукт ORF2 мав молекулярну масу 30 кД, тобто таку саму, як у білка з очищеного вірусу. Отже, отримані результати показали, що основний структурний білок ЦВС-2 з молекулярною масою 30 кД кодується ORF2. Імунофлюоресцентний аналіз клітин, інфікованих ЦВС-2, показав, що білок ORF2 цирковірусу свиней другого типу локалізований в ядрі (Liu Q. et al., 2001) [20].

2.2. Філогенетична спорідненість ізолятів ЦВІС з різних географічних зон

Велика кількість проведених досліджень підтвердила, що цирковірус свиней, позначений як ЦВС-2, відповідальний за виникнен-

ня СМВП. Fenaux M. зі співавт. (2000) здійснили ампліфікацію з подальшим секвенуванням повних геномів шести ізолятів ЦВС-2 з різних географічних регіонів Північної Америки. Секвенування і результати філогенетичного аналізу підтвердили, що існує два різних геноми ЦВС: непатогенний генотип ЦВС-1 та асоційований з СМВП генотип ЦВС-2. Усередині генотипу ЦВС-2 раніше ідентифіковано кілька мінорних відгалужень, мабуть, асоційованих з географічним походженням. Аналіз нуклеотидної послідовності 3-х геномів ЦВС-2 з Німеччини та 3-х геномів з Іспанії показав, що геноми цих ізолятів складаються із 1768 нуклеотидів, тоді як геном ЦВС-2 двох ізолятів з Франції складається із 1767 нуклеотидів, тобто на 1 нуклеотид менше (Mankertz A. et al., 2000; Meehan B.M. et al., 1998). Однак ця деліція, очевидно, не порушує цілісності вірусного геному. Геномні послідовності двох ізолятів ЦВС-2 з Франції відрізняються від більшості геномних послідовностей інших ізолятів ЦВС-2 і утворюють окрему гілку.

Інші мінорні, але різні гілки, були також ідентифіковані як ізоляти ЦВС-2: один з Тайваню, два інших з Канади. Всі ізоляти ЦВС-2 із США були близькоспорідненими, але в ізолятів з Канади спостерігалися варіації в геномних послідовностях. Результати, отримані в ході даного дослідження, вказують на те, що ізоляти циркувірусу другого типу з різних географічних районів варіюють за своїми геномними послідовностями.

Meehan B.M. зі співавт. у своїй роботі з аналізу геномів ЦВС-2 з Північної Америки та Європи (1998) показав, що вони утворюють близькоспоріднену групу за ступенем ідентичності нуклеотидної послідовності (> 96% внутрішньогрупової ідентичності). Водночас були виявлені відмінності між ними, у зв'язку з чим, європейські штами були розділені на три групи, що розрізняються за своєю вірулентністю (Meehan B.M. et al., 1998; Morozov I. et al., 1998; Ohlinger V.F. et al., 2000).

Філогенетичний аналіз усіх наявних у банку даних ізолятів ЦВС-2 показав спорідненість ізолятів з Іспанії, Німеччини і Франції з трьома ізолятами з Канади і двома ізолятами з Тайваню, тоді як північноамериканські ізоляти являють собою окремий кластер. Філогенетичний аналіз ізолятів з Азії виявив, що вони споріднені з європейськими ізолятами, а також трьома канадськими ізолятами (CAN 8-10).

Можливо, надалі отримані дані проллють світло на шлях трансмісії або ретрансмісії ЦВС-2 між континентами. Очевидно, що описувані дані – це перше відбиття мікроеволюції ЦВС-2 [20].

2.3. Виділення та культивування

ЦВС-1 виділений з персистентно інфікованої перещеплюваної культури клітин нирок поросят РК-15. Методом флуоресціюючих антитіл (МФА) в ній виявлена відносно невелика кількість клітин, що містили вірусний антиген (1–2%) [4, 23]. Хоча за даними інших авторів ЦВС-1 у культурі клітин РК-15 не було виявлено (Edwards S., 1994) [23].

Розмножуючись у культурі клітин, ЦВІС не розвиває ЦПД у титрі 4.3–5.5 lg ТЦД_{50/мл}. Інфіковані клітини виявляються РІФ та імунопероксидазним фарбуванням (Allan G.M. et al., 1999; Krakowka S. et al., 2000). Реплікація вірусної ДНК ЦВІС відбувається в ядрі і, оскільки вірус не має своєї полімерази, реплікація залежить від ферментів клітини-господаря, синтезованих у S-фазі клітинного циклу (Gassmann M. et al., 1988; Gorgo M. et al., 1987; Tischer I. et al., 1987).

Були проведені випробування інших культур клітин для виділення та культивування цирковірусів. У роботі, проведеній Центральною ветеринарною лабораторією Великобританії (Edwards S. and Sands J.J., 1994), було випробувано 12 клітинних культур (к / к): РК-15 (перещеплювана к / к нирки поросяти, Данія), LLC- РК (нирка поросяти, Англія), SK-6 (Kasza нирка, Англія), РЕК (нирка ембріона поросяти, Англія), ESK (нирка ембріона поросяти, Японія), SK-L (нирка поросяти L-, Японія), SK-H (нирка поросяти H, Японія), СРК (клональна лінія нирки поросяти, похідне від SK-H, Японія), STE (лінія клітин сім'яників, Німеччина) та ін. У тестах ІФА на наявність ЦВС, позитивні результати були отримані на 4 культурах клітин: РЕК, SK-H, СРК і ESK. У культурі клітин РК-15 в цих дослідженнях вірус не був виявлений, хоча за даними інших дослідників (Allan G.M. et al., 1994; Todd D. et al., 1991), у цій культурі клітин вірус успішно реплікувався (Tischer I. et al., 1987). Можливо, в проведених дослідженнях був використаний інший штам клітин РК-15.

У роботі інших дослідників (Allan G.M. et al., 1994) показано, що для культивування ЦВІС було використано 14 культур клітин різ-

них видів тварин: первинна к/к нирки поросяти, к/к легені свині, к/к сім'яників кнура, к/к РК-15, первинна к/к нирки великої рогатої худоби, к/к сім'яників великої рогатої худоби, первинна к/к нирки ягняти, к/к печінки курей, клітини Vero, HEP і HELA. Реплікація вірусу в культурі клітин оцінювалася за наявністю антигену в ядрах з напрацюванням вірусу при наступних пасажах клітин первинно зараженої культури. Оцінювання проводили за допомогою непрямой реакції імунофлюоресценції. Результати здійснених досліджень показали, що тільки культури тканин поросят і культура клітин Vero чутливі до інфікування цирковірусом.

За вивчення характеру реплікації ЦВС-2 Tischer I. зі співавт. (1987) інкубували заражені вірусом клітини нирки поросяти РК-15 з d-глюкозаміном-HCl у дозі 300 мМ впродовж 1 год при 37°C. Установлено, що глюкозамін стимулює збільшення кількості клітин, що містять вірусний антиген, приблизно в 50 разів порівняно з контролем, а також – реплікацію ДНК вірусу.

У період реплікації вірусу в синхронізованій культурі клітин, інфікованій в різні періоди клітинного циклу, як уже згадувалося, син-тез ДНК залежить від клітинних ензимів, експресованих у S-фазі росту, тобто, реплікація ДНК починається лише за умови проходження клітинами мітозу. У клітинах, оброблених глюкозаміном, початок реплікації ЦВІС відбувався в першій S-фазі після стимуляції у присутності ДЕАЕ-декстрану або у випадках, коли клітини заражали і надалі обробляли глюкозаміном до того, як вони увійшли в S-фазу після стимуляції (Gilpin D.F. et al., 2003).

Отже, глюкозамін проявляє найбільший ефект лише після інфікування клітин і після трансфекції. Глюкозамін та ДЕАЕ-декстран індукують реплікацію цирковірусу, сприяють проникненню його геному в ядро клітини, що в необробленій культурі відбувається тільки через включення геному вірусу в дочірнє ядро наприкінці мітозу. Оброблення глюкозаміном рекомендується проводити для збільшення врожаю вірусу [20].

Отже, беручи до уваги необхідність проходження зараженої клітини стадії мітозу для подальшого активного розмноження вірусу, стає зрозумілим розвиток СМВП переважно у поросят відлучного періоду і відсутність такої у дорослих свиней, лімфоїдні клітини яких вирізняються низькою мітотичною активністю (Gilpin D.F. et al., 2003) [20].

2.4. Генетична варіабельність геномів цирковірусів свиней

Поряд з вивченням основних класифікаційних властивостей цирковірусів свиней проводиться визначення антигенного споріднення виділених у різних країнах штамів.

Застосування методу нуклеотидного секвенування дало можливість сформувати геномні бібліотеки ЦВС-1 і ЦВС-2, ізольованих у різних частинах світу (Fenaux M. et al., 2000; Hamel A.L. et al., 1998). Проведений філогенетичний аналіз 166 ізолятів ЦВС-2 дав змогу виділити дві геногрупи цирковірусу свиней 2-го типу ЦВС-2а і ЦВС-2b (Harding J., 2008) (рис. 1).

Гомологія нуклеотидних послідовностей між ЦВС-2а і ЦВС-2 становить 94–96%. Результати, отримані Carl Gagnon et al. (2007) при обстеженні свинарських господарств Канади, позитивних по ЦВС-2, у період 2004–2006 рр. показали наявність 13 нових ізолятів ЦВС-2, виділених авторами в окрему групу. На думку дослідників, виявлення нового кластера ЦВС-2 може пояснити питання різної вірулентності штамів ЦВС-2 [23].

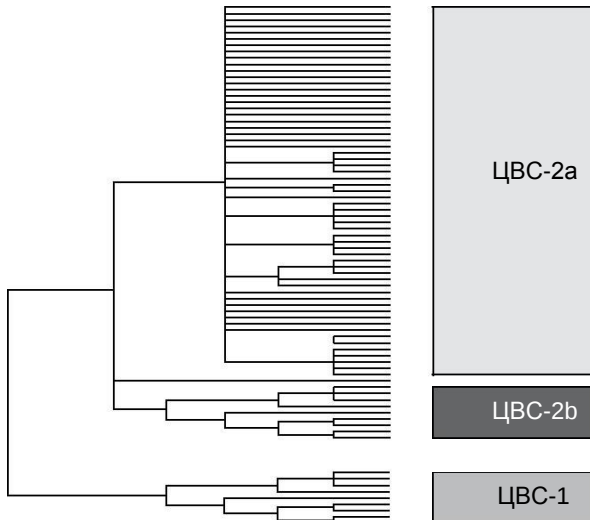


Рис. 1. Дендрограма, що відображає варіабельність геномів цирковірусів свиней

2.5. Репродукція ЦВІС

Реплікація вірусної ДНК здійснюється за типом «кільця, що котиться» характерного для фагів, бактеріальних плазмід і вірусів рослин роду *Mastervirus* родини *Gemeniviridae*. Рер-комплекс спільно з шпилькоподібною структурою ДНК виступають у ролі промотору реплікації (Mankertz A., 1997, 1998; Cassman M. et al., 1988). Своєю чергою R ер-комплекс не володіє ДНК-полімеразною функцією, в результаті чого формування нової вірусної ДНК можливо лише за участі клітинних ДНК-полімерази (рис. 2). Характерною особливістю репродукції ЦВІС є наявність клітин у фазі активного ділення (S-фаза) (Tisher I., 1987; Mankertz A., 1993; Buhk H.J. 1988). Умови взаємодії клітинних детермінант з ЦВІС-антигеном до кінця не відомі.

Як було зазначено раніше, ЦВС-1 є непатогенним контамінантом перещеплюваної лінії клітин нирки поросяти РК-15 (ATCC CCL 33), тоді як ЦВС-2 є головним етіологічним агентом СМВІП. Однак, не-

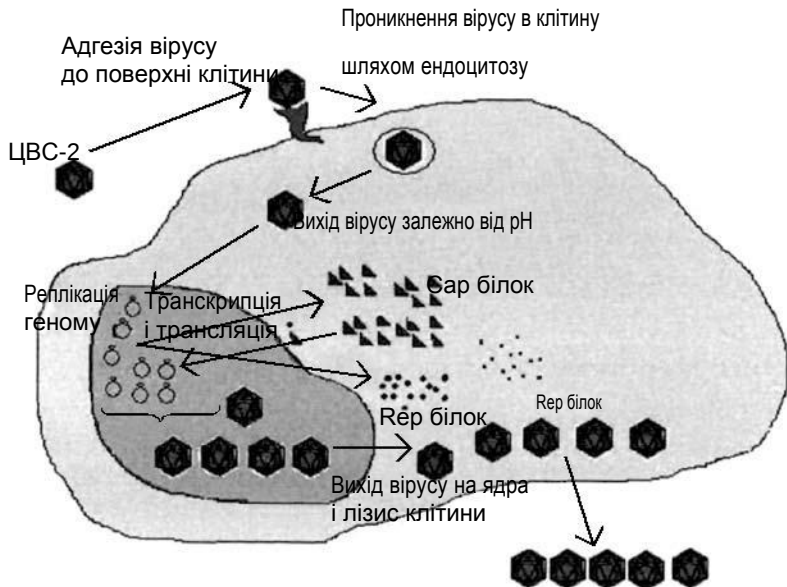


Рис. 2. Схема репродукції ЦВІС-2 (за Mankertz A. et al., 2008)

зважаючи на сформоване уявлення про типоспецифічність ЦВС-1 і ЦВС-2, сучасні результати наукових досліджень ставлять під сумнів сформовану думку про типоспецифічність ЦВІС. Виділення ЦВС-1 від тварин з СМВП свідчить про наявність факторів, що визначають вірулентність цього типу вірусу (Le Cann P. et al., 1997). Також існують дані про можливість контамінації культуральних біопрепаратів ЦВС-2 (Герилович А.П., 2007) [23].

2.6. Чутливість клітин до зараження ЦВС-2 в умовах *in vivo*

Нині велику кількість робіт присвячено визначенню чутливих до ЦВІС клітин організму тварини. Проте на сьогодні до кінця не з'ясовано, де саме відбувається первинна реплікація ЦВІС, в результаті чого залишається відкритим питання про фактори резистентності організму до зараження вірусом. Дані, що стосуються рівня імунної відповіді при реінфекції, також вимагають детального розгляду (Krakowka S. et al., 2001; Kiupel M. et al., 1999).

За даними літератури, ЦВС-2 переважно виявляється у моноцитах/макрофагах, меншою мірою в гепатоцитах, різних типах епітеліальних клітин, ендотеліальних клітинах, фібробластах, лімфоцитах, м'язових клітинах і нейронах (Allan G.M. et al., 1994; Rosell C. et al., 1999; Kennedy S. et al., 2000; Stevenson G.W. et al., 2001; Se-gales J. et al., 2001).

R.E. Sanchez et al. у 2003 р. досліджували локалізацію ЦВС-2 у плодів, інфікованих способом внутрішньоматкового введення вірусу на різних стадіях поросності, і одностенних порослят-гнотобіотів.

У результаті автори виявили істотні відмінності в репродукції ЦВС-2 у заражених клітинах у порослят, інфікованих вірусом до і після народження. Як виявилось, клітинами-мішенями для ЦВС-2 у плодів були кардіоміоцити, гепатоцити та лімфоцити серця і печінки. У новонароджених порослят ЦВС-2 виявляли тільки в моноцитах/макрофагах, легенях та лімфатичних вузлах. Високий рівень ЦВС-2 був відзначений у невеликій групі тварин, у яких крім моноцитів / макрофагів інфікованими були CD4 + Т-лімфоцити, CD8 + Т-лімфоцити і В-лімфоцити.

Інша група дослідників (Vincent S. et al., 2004) вивчала взаємодію стовбурових клітин з ЦВС-2. Автори дійшли висновку про

можливість персистенції вірусу в стовбурових клітинах без втрати інфекційності й відсутності альтерацій клітин. Ними показано, що передача ЦВС-2 від стовбурових клітин Т-лімфоцитам неможлива, навіть коли останні перебувають в активній фазі. Отже, дані про здатність ЦВС-2 зумовлювати лімфопенію, на думку авторів, є помилковими.

Однак існує думка про причетність ЦВС-2 до розвитку апоптозу В-лімфоцитів з подальшим розвитком лейкопенії (Shibahara P., 2000).

У роботі S. Yu et al. (2007) наведено дані про інфікування поросят і реплікації ЦВС-2 у різних типах клітин. Згідно з результатами досліджень велика кількість ДНК копій ЦВС-2 та капсидних білків вірусу виявляли на 7-й день після зараження в CD3 + Т-лімфоцитах і В-лімфоцитах порівняно з їх рівнем у моноцитах / макрофагах. Однак на 21-й день кількість копій ДНК і мРНК ЦВС-2 у моноцитах / макрофагах переважало над їх рівнем у Т- і В-лімфоцитах.

2.7. Культивування ЦВС-2 *in vitro*

Питання вивчення чутливості клітинних культур до зараження ЦВС-1 і ЦВС-2 розглянуті в роботах (Allan G.M., 1993,1994; Tischer I., 1982; Lukert P. et al., 1999; Misinzo M. et al., 2005; Mankertz A. et al., 2006).

ЦВС-1 був виділений з персистентно інфікованої перещеплюваної лінії клітин РК-15. За допомогою реакції імунофлуоресценції (РІФ) було виявлено, що 1–2% клітин містять антиген (Gassmann K., 1988). Зараження цієї клітинної лінії ЦВС-1 призводило до накопичення вірусного антигена (Todd D. et al., 1991). Проте за даними інших авторів, ЦВС-1 у культурі клітин РК-15 виявлений не був (Edwards S., 1994).

Репродукцію ЦВС спостерігали в первинних клітинних культурах: нирки свині, легені свині, тестикул кнура, тестикул великоїрогатої худоби, нирки великоїрогатої худоби, нирки ягняти, тестикул ягняти, а також у перещеплюваних клітинних лініях: РК-15, Vero, NEP, HELA (Allan G.M., 1993).

У культурі клітин РК-15 титр ЦВС-2 може досягати 4,3–5,5 Іг ТЦД₅₀/смз. Стимуляцію реплікації вірусу спостерігали після обробки культури клітин d-глюкозаміном, що призводило до збільшення

числа клітин, які містять вірус, приблизно у 50 разів (Tisher I., 1987.) Розмноження ЦВС не зумовлювало розвиток цитопатичного ефекту в інфікованих клітинах. Проте останні дані (Mankertz A., 2008) показують наявність дегенеративних змін у клітинних лініях моноцитів (3D4/31, L 35) та первинній культурі клітин нирки свині (Duffy C. et al., 2007).

Результати, отримані G.M. Allan et al. (1994), свідчать про можливість реплікації вірусу в культурах лейкоцитів, отриманих з кісткового мозку, периферичної крові, легневих змивів, тимуса і лімфатичних вузлів свиней [23].

Останнім часом для розмноження ЦВС-2 використовують перещеплювану культуру клітин сітківки плоду свині, трансформовану геном ЕІ аденовірусу людини 5. Цю культуру клітин не обробляють глюкозаміном, оскільки вона трансформована [4].

3

Поширення та патогенність ЦВС-1 і ЦВС-2

Основним методом вивчення динаміки хвороби та імунного статусу тварин при цирковірусних інфекціях свиней на сьогодні є про-ведення серологічних досліджень. За результатами серомоніторингу, проведеного в різних країнах, антитіла (Ат) до ЦВІС виявлені практично повсюдно.

Дослідження сироваток крові свиней, проведені в Німеччині, США, Великій Британії, Канаді, Ірландії, Франції, Бельгії, Японії, Росії, Україні, виявили наявність Ат до ЦВІС-1 і ЦВІС-2, причому серопозитивна інцидентність ЦВІС варіювала від 20% до 80% (Герилович А.П., 2007; Тимина А.М., 2006; Allan G.M., 1998, 1999; Borel N. et al., 2001; Choi C., 1999, 2000; Cotrell T.S. et al., 1999; Dulac G.C. et al., 1989; Edwards S. et al., 1994; Kennedy S. et al., 1998; Kiss I. et al., 2000; Kiupel M. et al., 1999; Mankertz A., 2000; Meehan Y.M. et al., 1998; Onuki A. et al., 1999; Sato K. et al., 2000; Segales J. et al., 1997).

Слід зазначити, що тривале вивчення рівня антитіл у сироватках крові свиней показало, що Ат до ЦВІС-2 виявлені у 2,6% поросят до 2-місячного віку, 30,7% у поросят у віці 2–4 міс., 46% у 4–6-місячних поросят, 50% у ремонтного молодняка і 24,6% дорослих тварин (Тимина А.М., 2006, Stevenson G.W. et al., 2001).

На підставі отриманих результатів дослідники дійшли висновку про можливість інфікування тварин на стадії відгодівлі, де вони перебувають у тісному контакті один з одним (Charrevere C. et al., 2000).

Подальші вивчення підтвердили ці припущення. У своїй роботі автор зазначав зниження відсотка серонегативних тварин залежно від віку та одночасне збільшення титрів антитіл (Charrevere C. et al., 2008) [23].

Відзначено, що у поросят, вражених СМВП, титр специфічних антитіл був вищим, ніж у клінічно здорових особин [21, 185, 187].

Результати [21, 28], отримані в реакції імунофлюоресценції і реакції нейтралізації з сироватками від поросят з інфікованих стад, показують, що рівень колостральних антитіл до ЦВІС знижується упродовж восьми тижнів після народження, і тварини хворіють у наступні 2–3 тижні.

У ретроспективних серологічних дослідженнях, проведених у Канаді, антитіла до ЦВІС-2 були виявлені в сироватках, відібраних за 10 років до виявлення СМВІП [7, 21].

Під час оцінювання конкурентним методом ІФА сироваток крові свиней з господарств Північної Ірландії, зібраних у 1973–1999 рр., антитіла до ЦВІС-2 виявили в 358 пробах з 460 (78%); з 108 обстежених господарств серопозитивні тварини виявлені в 94 (87%) [21, 61]. У 1998–1999 рр. у всіх 42 обстежених господарствах виявлені серопозитивні тварини, і їх кількість зросла від 55% (1984 р) до 92–100% (1999 р.).

У 2000 р. канадськими дослідниками методом полімеразної ланцюгової реакції ЦВІС-2 було виявлено у тканинах і органах 931 поросяти (55%>) із 1693 обстежених, а також у спермі двох (6%) із 34 клінічно здорових кнурів (154). У 2005 р. в тій же Канаді ДНК цирковірусу типу 2 було виявлено у спермі 13 (30%) із 43 кнурів [10, 21].

Під час обстеження 116 господарств Великої Британії у 2003–2004 рр. симптоми СМВІП виявили приблизно у 80% з них [11, 21].

За дослідження 61 свиноферми в Ірландії у 2004–2005 рр. на наявність антигену ЦВІС-2 імуногістохімічно і гістопатологічно всі господарства виявилися позитивними [12, 21].

У Росії цирковіруси були вперше виявлені у 2000 р. [13, 21]. Методом ПЛР ЦВІС-2 було виявлено у більшості з обстежених господарств.

За вивчення можливості циркуляції ЦВІС-2 у різних видів тварин і людини отримані неоднозначні результати. Раніше вважалося, що інфекція ЦВІС у природі обмежена популяцією свиней [14, 21]. Результати серомоніторингу, проведеного в країнах Європи, показали, що для диких кабанів ЦВІС-2 також циркулює, як і у свиней; до 50% особин мають антитіла до нього [15, 16, 21]. Під час аналізу сироватки крові представників різних видів ссавців антитіла до ЦВІС-2 виявити не вдалося [21, 75]. Однак канадськими дослідниками ЦВІС був виявлений методом ПЛР у тканинах легенів 6 із 100 телят із

респіраторними розладами та у 4 із 30 абортіваних плодів [18, 21]. Геном цирковірусу, виявленого у великої рогатої худоби, мав 99% гомології з геномом ЦВС-2 [21].

На сучасному етапі вивчення епізоотології ЦВС питання про патогенність ЦВС-1 і ЦВС-2 для інших видів тварин стоїть дуже гостро. Щодо цього існують суперечливі дані. Так, у роботах G.M. Allan et al. (1993) Ат до ЦВС-1 у сироватках крові кролів, овець, індиків, качок, курей, великої рогатої худоби, великої рогатої худоби, мишей і людей виявлені не були. Наступні дослідження показали наявність Ат до ЦВС-1 в 30% сироваток крові людей, 12–69% мишей і 35% сироваток крові ВРХ, а G. P. Nayyar (2004) виявив ДНК ЦВС-2 у телят із респіраторними порушеннями (Tischer I. et al. 1995; Allan G.M., 2000; Ellis J.A., 2000, 2001).

Джерелом збудника є хворі й латентно інфіковані тварини різних вікових груп. ДНК ЦВС-2 методом ПЛР вдалося виявити в слині, сечі, фекаліях, носових змивах і сльозах хворих свиней (Krakowka S. et al., 2000, Bolin S.R. et al., 2001, Shibata I. et al., 2003). Отже, теоретично можливими є всі способи екскреції збудника з організму тварини. Однак більшого значення у розвитку ЦВС-2 інфекції та СМВП дослідники надають повітряно-крапельному способу передачі, що було підтверджено численними дослідженнями (Allan G.M. et al., 1999; Balasch M. et al., 1999; Ellis J. et al., 1999; Krakowka S. et al., 2000, 2001; Rovira A. et al., 2002). Можливість горизонтального способу перенесення ЦВС-2 через прямий контакт між хворими та здоровими поросятами була показана в роботах E. Albina. (2001), Bolin S.R. et al., 2001).

У 2000 р. A.L. Hamel et al., R. Larochell et al. у результаті експериментального відтворення інфекції через 47 днів після зараження виявили ЦВС-2 у спермі кнурів. ДНК ЦВС-2 також було виявлено у спермі природно інфікованих тварин (Le Talec, 2001).

Отже, наведені дані дають можливість зробити висновок про вплив штучного осіменіння, а також природного парування тварин на дисемінацію збудника статевим способом.

Вертикальний спосіб передачі інфекції також не виключається. Однак щодо цього існують суперечливі думки. У дослідженнях В.К. Park et al. (2005) показана трансмісія ЦВС-2 через плаценту свиноматки при інтраназальному зараженні. Своєю чергою в роботі не наведено дані про дослідження сперми, використаної при заплідненні.

Протилежна точка зору представлена в дослідях, проведених R. Cariolet et al. (2001). Вивчення плодів від експериментально інфікованих свиноматок через внутрішньом'язову та інтратрахеальну ін'єкції показало відсутність ЦВС-2 у тканинах плодів, незважаючи на клінічні ознаки захворювання у свиноматок. За внутрішньоматковому введенні ЦВС-2 народжувалися мертві або муміфіковані поросята залежно від стадії поросності під час зараження (Rose N., 2007, Cariolet R., 2000). Внутрішньоутробне зараження ЦВС-2 супроводжувалося деструктивними порушеннями у розвитку ембріонів (Pensart M. et al., 2004; Johnson J.E. et al., 2002; Sanchez R.E. et al., 2001, 2003, 2004; Mateusen B. et al., 2004; Nauwynck P. et al., 2007). Порушення репродуктивних функцій, асоційовані з ЦВС, в Європі трапляються рідко (Maldonado J. et al., 2005; Pensait M. et al., 2004), проте в Кореї близько 13% випадків абортів і мертвонароджених поросят пов'язано з ЦВС-2 (Kim J., 2004). Проведені епізоотологічні дослідження дають підставу вважати, що одним з головних шляхів поширення ЦВІС по всьому світу є неконтрольоване використання інфікованої сперми кнурів (Desrosiers K., 2007). ЦВС-2 може зумовлювати у свиней персистентну інфекцію. ДНК ЦВС-2 виявляли в тканинах свиней, які зазнали забою на 125 день після зараження (Bollin S.R. et al., 2001). Свині, хронічно інфіковані ЦВС-2, траплялися як у благополучних, так і в неблагополучних по СМВП госпо-дарствах (LaRoche R. et al., 2003; Sibilila M. et al., 2004). Механізми персистенції ЦВС-2 в організмі свиней досі невідомі.

На думку С. А. Чупіна та ін. (2006), найімовірнішим резервуаром інфекції є популяція диких кабанів. Аналогічні дані представлені в роботах Ruiz-Fons (2005) і S. Knell et al. (2005), що доводять наявність ЦВС-2 у диких кабанів у Німеччині та Іспанії. Результати серомоніторингу серед диких кабанів у ряді областей Центрального Федерального округу Російської Федерації свідчать про перехворювання або носійство ними ЦВС-2 (Кукушкін С.А. та ін., 2006).

Нині Європейським співтовариством дослідників цирковірусних інфекцій свиней прийнято три основних критерії, на підставі яких можна судити про виникнення СМВП. Це характерні клінічні ознаки захворювання, зміни в лімфоїдних органах і наявність ЦВС-2 всередині уражених тканин (Sorden P. et al., 2000) [23].

3.1. Поширеність ЦВС в господарствах України

Дослідження поширення ЦВС-2 на території України проводились на базі лабораторії молекулярної діагностики Центру Сучасної Діагностики ТОВ НВП «Біо Тест Лабораторія».

Матеріалом для досліджень був патологічний матеріал від свиногосподарств різних форм власності. Протягом 2009–2012 рр. було досліджено матеріал від тварин зі 109 господарств із 21 області України (крім Закарпатської, Сумської та Луганської) та АР Крим. Найбільшу кількість господарств було досліджено із Дніпропетровської, Київської, Черкаської та Донецької областей.

У результаті роботи було проведено 402 дослідження патологічного матеріалу (лімфатичні вузли, селезінка, легені) від свиней різного віку та технологічних груп щодо наявності ЦВС-2, із них позитивних –171, що становить 42,5%.

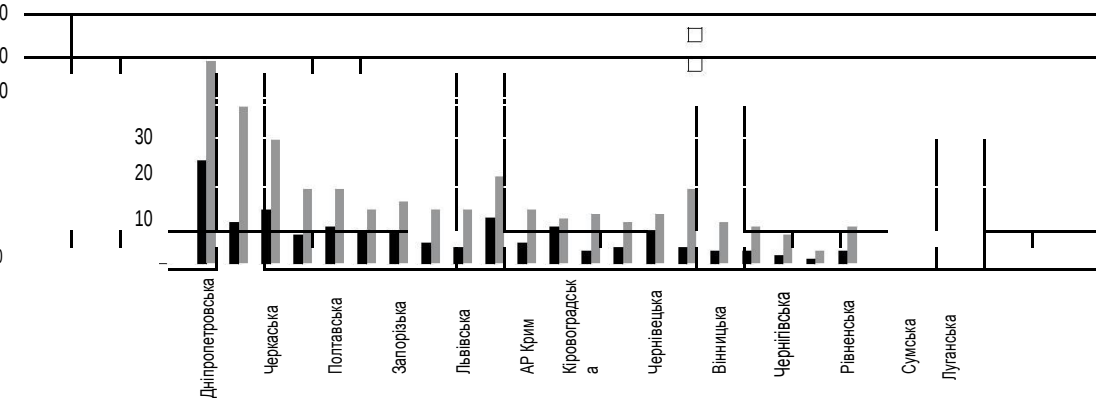


Рис. 3. Поширення ЦВС-2 серед свиногоголів'я в областях України

При цьому дослідження проводили лише у тварин з клінічними проявами ЦВС (виснаження, кашель, іктеричність шкіри, дерматити).

Кількість позитивних зразків відносно загальної кількості досліджуваних показана на рис. 3 [6].

4

Епізоотологічні особливості

Як вже зазначалося вище, ЦВІС вперше спостерігали у 1992–1996 рр. у Канаді, а вже з 2000 р. цю інфекцію почали розглядати як одну з найпоширеніших у країнах світу з розвиненим свинарством [17, 124]. Бурхливу динаміку поширення ЦВІС, зокрема у регіонах США з найбільш розвиненим свинарством наочно демонструє графік, взятий з огляду провідних американських фахівців з хвороб свиней Університету штату Айова (США) Tanja Opriessnig, Xiang-Jin Meng, Patrick G. Halbur (2007), і побудований на основі результатів лабораторних досліджень, проведених у цьому університеті впродовж 1993–2006 рр. Графік демонструє появу масових захворювань на ЦВІС у 1997–1998 рр. (до 130 позитивних діагнозів), поступову стабілізацію епізоотичної ситуації у 1999–2005 рр. на рівні 500–1000 позитивних діагнозів на рік і різке підвищення захворюваності на ЦВІС (майже на 300%) у 2006 р. При цьому в період від 2000 до 2006 року частка позитивних патогістологічних діагнозів на ЦВІС від 12–16% у 2000–2005 рр. зросла до 22% у 2006 р. – переважно за рахунок випадків системних інфекцій, пов'язаних з мультисистемним виснаженням поросят, та різного роду пневмоній [17, 125].

Стосовно ЦВІС проведена обмежена кількість епізоотологічних досліджень і найрезультативніші з них – останніми роками. У 1999 р. в Канаді було обстежено 25 свиного господарств з метою виявлення факторів ризику ЦВІС серед технологічно-господарських чинників свинарства [17, 126]. Було встановлено негативний вплив на епізоотичну ситуацію низького рівня гігієни та технологічних порушень під час догляду підсисних поросят, а також порушення у промисловому свинарстві норм біобезпеки. Головною метою системного епізоотологічного дослідження товарних свиного господарств Нідерландів у 2002–2004 рр. було визначення ролі фактора ко-інфекції у виникненні та у формах перебігу епізоотичного процесу ЦВІС [17,

127]. Було визначено високий рівень поширення (преваленції) асоціації ЦВС-2 зі збудником репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС) в стадах свиней, уражених з типовими клінічними ознаками ЦВІС. До того ж було з'ясовано, що у складі асоціації інфекційних агентів, яка циркулює в цих стадах, наявні як європейський, так і американський типи вірусу РРСС. У Франції значні зусилля було спрямовано на вивчення комбінацій факторів ризику в епізоотології ЦВІС [17, 128]. При епізоотологічному обстеженні 149 свиногосподарств з повним виробничим циклом («farrow-to-finish farms», тобто «від опоросу до відгодівлі») встановлено, що найважливішими факторами ризику виникнення ЦВІС були певні організаційні вади ведення свинарства, що порушували закритий режим виробництва, а також окремі технологічні прийоми: наприклад, інтенсивна перехресна підсадка сисунів до чужих свиноматок (intense cross-fostering). На другому етапі епізоотологічного дослідження цими самими фахівцями виявлено вузьке коло факторів ризику, зокрема пов'язаних з вакцинацією [17, 81]. Встановлені у перебігу обох епізоотологічних досліджень фактори ризику виникнення та поширення ЦВІС на 149 французьких свинофермах узагальнено нижче.

1. На рівні свиногосподарства (з повним циклом):

- зараження парвовірусом свиней відгодівельної групи кінцевої фази відгодівлі;
- зараження вірусом РРСС свиней відгодівельної групи кінцевої фази відгодівлі;
- несертифіковані щодо ЦВС-2 джерела сперми;
- схема щеплення проти бешихи;
- перехресна підсадка поросят-сисунів, що перевищує 15% від їх загальної кількості;
- великі розміри секції під час відлучення;
- низький рівень гігієни у групі відлучених поросят;
- низький рівень гігієни у групі порослих свиноматок;
- утримання супоросних свиноматок великими групами;
- низький рівень гігієни та якості протипаразитарних обробок холостих свиноматок.

2. На рівні гнізд:

- сероконверсія свиноматок щодо ПВС під час порослості;
- абсцеси або ушкодження у місцях ін'єкцій (шия);
- сероконверсія підсисних свиноматок щодо ЦВС-2.

З наведеного вище списку факторів ризику ЦВІС видно, що найзагрозливішим є фактор асоціації парво- та цирковірусу, особливо у групі порослих свиноматок. Додатково здійснені дослідження довели, що у будь-якому разі спалахи ЦВІС у Франції не пов'язані з по-явою нового генетичного варіанта збудника [17, 129]. Те, що практично всі свині до завершення фази відгодівлі ставали серопозитивними на ЦВІС може свідчити про зараження певної кількості їх на ранніх фазах вирощування. У 2002 р. на основі результатів епізоотологічних досліджень іспанські вчені дійшли висновку, що ключовим фактором клінічного вияву ЦВІС є динаміка естафетної передачі ЦВІС-2 [17, 130].

А в 2005 р. інша група іспанських фахівців на основі широкого епізоотологічного обстеження неблагополучних щодо ЦВІС промислових свиногосподарств найнебезпечнішими оголосила три фактори – два з них пов'язані зі схемою вакцинації свиноматок, а один – з сероконверсією на ЦВІС-2 у групі поросят дорощування [17, 111].

Отже, сучасні епізоотологічні дані свідчать, що ЦВІС є факторною інфекційною хворобою і її, крім цирковірусу, зумовлюють інші фактори, які сприяють масивному розмноженню цього збудника і мають самостійний патогенний вплив на організм свині.

Передача ЦВІС відбувається через прямий контакт свино-поголів'я, ороназальним шляхом, через гній та сечу [17, 41]. Способи виділення збудника хвороби експериментально вивчалися на заражених безмолозивних поросятах за допомогою дослідження у ПЛР зразків рото-глоткових та носових змивів, фекалій, цільної крові та сироватки [17, 131]. Всі обстежені свині через день після інюкуляції були позитивними на вірусну ДНК за результатами дослідження носових та рото-глоткових змивів, а також зразків фекалій. До 70-ї доби після зараження вірусна ДНК виявлялася у всіх зразках, за винятком рото-глоткових змивів. Зразки сироватки крові та цільна кров через 7 діб після інюкуляції були позитивними у ПЛР [17, 132]. Зскрібки мигдаликів, носові, трахеобронхіальні та ректальні змиви, а також зразки сечі від підсвинків з ознаками та без ознак ЦВІС за дослідження у кількісній *rt-PCR* були позитивними у більшості випадків, що дало змогу американським дослідникам J. Segales та ін. (2005) дійти висновку, що збудник хвороби виділяється переважно з респіраторними виділеннями, ротовими секретами, сечею та з фекаліями як клінічно хворих на ЦВІС, так і клінічно здорових свиней. Інтенсивність виділення збудника у клінічно хворих була значно вищою, ніж у клініч-

но здорових свиней [17, 133]. Передачу збудника через фекалії підтверджують також позитивні результати ПЛР з пробами кишківнику (26%) та фекалій (44%) від клінічно хворих та здорових (21% та 80% відповідно) у дослідженнях 2003 р. [17, 122].

Вертикальну передачу збудника було доведено численними дослідженнями свиноматок як у польових [17, 134, 135], так і віварних експериментах [17, 87]. Ці дослідження підтвердили дані 1999 р. про внутрішньоматкову передачу збудника, спричинену або віремсією, або вродженою персистентною інфекцією свиноматок [17, 104]. Окрім того, було проведено ґрунтовні дослідження з передачі збудника через сперму. Кнурів 7-місячного віку було інтраназально заражено епізоотичним варіантом збудника [17, 82]. У сироватках крові 3-х з 4-х заражених тварин вірусну ДНК було знайдено уже через 4 доби після зараження; кров була позитивною в ПЛР до 35 доби після зараження (п.з.), але негативною – через 90 діб п.з. Водночас сперма виявлялася як ПЛР-позитивна вже з 5-ї доби після зараження (n=2 з 4) і лишалася позитивною упродовж 47 діб після інюкуляції у всіх 4-х кнурів [17, 136]. 13 із 98 проб сперми від однорічних кнурів із 49 свиноферм у Південній Корей, перевірених у класичній ПЛР, 26 із 98 проб, перевірених у гніздовій ПЛР та 11 із 98 проб, перевірених методом виділення вірусу у культурі клітин, були позитивними на ЦВС-2 у дослідженнях 2003 р. [17, 95]. У цих самих дослідженнях найбільшу кількість ДНК збудника ЦВІС виявлено у рідині сперми та в допоміжних клітинах сперми; у голівках сперматозоїдів її було значно менше [17, 137]. За виробничих умов ДНК збудника виявлялася у спермі доволі рідко, проте серопозитивні на ЦВІС кнури час від часу виділяють вірус зі спермою [17, 98]. До того ж англійські дослідники не знайшли різниці у кількості ДНК збудника в ушкоджених та нормальних клітинах сперми кнурів-вірусоносіїв, а також у кнурів віком 17,5 міс. і старших [17, 138]. Це дає підстави вважати, що збудник ЦВІС не впливає на якість сперми та на ефективність запліднення свиноматок зараженими ним кнурами. Хоча вірусну ДНК і знайдено у спермі кнурів-вірусоносіїв, проте експериментального підтвердження, що збудник ЦВІС може передаватися під час штучного запліднення свиноматок поки що немає.

До проведення системних епізоотологічних досліджень вважалося, що до ЦВІС чутливі свині всіх пород та кросів, а клінічні ознаки її прояву не залежать від племінних факторів свинарства. У 2002–

2003 рр. на 4-х неблагополучних фермах, де застосовувалося штучне запліднення, проведено епізоотологічне моделювання з метою перевірки припущення практиків про меншу чутливість до ЦВІС свиней породи П'єтрєн [17, 112]. Половину свиноматок запліднили спермою від кнурів цієї породи, тоді як решту – типовою для цих господарств спермою. За показниками інтенсивності епізоотичного процесу ЦВІС (напруженість сероконверсії щодо ЦВС-2, захворюваність та смертність) потомство з приливом крові від П'єтрєнів не відрізнялося від решти свиней [17, 139]. Водночас за польових умов, на двох ідентичних господарствах з основним стадом на рівні 5000 свиноматок трьох різних батьківських генетичних ліній (П'єтрєн, Велика біла, Дюрок) показано, що генетичні особливості впливають на інтенсивність епізоотичного процесу ЦВІС: гібридне потомство Велика біла порівняно з двома іншими лініями мали істотно вищі показники смертності [17, 131]. Породна чутливість основного біологічного господаря збудника ЦВІС та його наслідки для перебігу епізоотичного процесу нещодавно були досліджені на контрольованій епізоотологічній моделі [17, 140]. У досліді вивчали чутливість до ЦВС-2 трьох порід – Дюрок, Ландрас та Велика біла. Макро- та мікропатологічні ознаки ЦВІС у підсвинків порід Дюрок та Велика біла не виявилися (0%, 0/23 та 0/21, відповідно); у підсвинків породи Ландрас вони виявилися у 15,8% випадків (3/19). Отже, во-чевидь, чистопородні свині породи Ландрас у цьому експерименті виявилися чутливішими до ЦВІС за рівнем як клінічних проявів, так і патогістологічних факторів. Проте у гібридних SPF-поросят, заражених тим самим ізолятом збудника з подібною пасажною історією у культурі клітин та з використанням тієї самої дози зараження клінічних ознак ЦВІС у жодному з численних експериментів не виявилися [17, 101, 138, 142–145]. Натомість інша дослідницька група відтворила системну форму ЦВІС на безмолозивних гібридних підсвинках Ландрас/Велика біла за допомогою ізоляту збудника, виділеного від субклінічно інфікованих свиней Йоркширської породи, у сукупності із застосуванням факторів довкілля, які сприяють розвитку клінічного вияву ЦВІС [17, 79]. Сучасні дослідження характеру розмноження збудника ЦВІС у легених альвеолярних макрофагах засвідчили істотну різницю у чутливості між макрофагами, виділеними від різних гібридів свиней, що проливає світло на механізми породної чутливості свиней до збудника ЦВІС [17, 141].

За численними даними епізоотологічного моніторингу ЦВІС та її епізоотологічного моделювання, важливою епізоотологічною рисою цієї інфекції є висока залежність рівня та форми її прояву від активності інших інфекційних агентів, крім ЦВІС-2. Експериментальне зараження свиней сумішшю ЦВІС-2 з іншими агентами, такими як парвовірус свині [17, 117, 146, 147], вірус репродуктивно-респіраторного синдрому або як *Mycoplasma hyopneumoniae* [17, 148] істотно збільшує інтенсивність розмноження ЦВІС-2, посилює важкість ураження цим вірусом органів і загалом сприяє різкому зростанню інцидентності ЦВІС у свиноварстві. Вперше посилювальна дія конкурентної інфекції на розмноження ЦВІС-2 була виявлена у 1998–1999 рр. після зараження поросят-гнотобіотів фільтрованим культуральним вірусом та, окремо, тканинним матеріалом від свиней з ЦВІС, набутою природним способом [17, 149]. Експериментально заражені свині проявили ознаки ЦВІС, проте ретроспективно у них, а також в інокуляті, крім ЦВІС-2 було виявлено ще й парвовірус свині (ПВС). В американському джерелі про поширення ЦВІС у 2002 р. при діагностичному дослідженні матеріалів від 484 хворих на ЦВІС свиней у 52% (251/484) випадків паралельно з ЦВІС було виявлено РРСС, у 36% (172/484) випадків – респіраторний мікоплазмоз (*M. hyopneumoniae*), у 22% (105/484) випадків – бактеріальну септицемію або пневмонію, у 5,4% (26/484) випадків – грип свиней і лише 2% (9/484) випадків становила моноінфекція ЦВІС [17, 115]. Встановлено, що змішана інфекція ЦВІС-2 та збудника хвороби Ауескі призводить до множинних некротизувальних тонзилітів та лімфаденітів. Американські фахівці результатами ретроспективного епізоотологічного дослідження начоно показали, що зі спалахами ЦВІС у свиногосподарствах США у 1998–2002 рр. найтісніше корелював саме ЦВІС-2, а не ПВС, віруси РРСС, ентеровіруси свиней 1–3 типів, вірус грипу свиней, респіраторний коронавірус свиней, вірус трансмісивного гастроентериту, ендемічний ретровірус свиней, 1-й тип лімфотропного герпесвірусу свиней чи вірус діареї великої рогатої худоби. При цьому встановлено, що найвищий ризик клінічного прояву ЦВІС у США виникав при змішуванні ЦВІС-2 з вірусом РРСС.

Хоча є окремі епізоотологічні дані про самодостатність ЦВІС-2 як збудника ЦВІС [17, 90, 108], проте останнім часом активно накопичується масив польових та експериментальних епізоотологічних даних, що вказують на основну роль у виникненні спалахів ЦВІС, як типової

факторної інфекції, чинників, що впливають на стан імунітету свині. Найактивнішими у цьому плані є фактори імуностимуляції свиней [17, 114, 151, 152]. Уперше до розшифровки механізмів цього епізоотологічного феномена наблизилася група фахівців, очолювана доктором S. Krakowka (2001). Ці вчені відтворили гостру форму інфекції способом інокуляції свиней ЦВС-2 та одночасної імуностимуляції емульсією гемоціаніну з моллюска у неповному ад'юванті Фрейнда [17, 145]. Завдяки цим даним стало можливим пояснити посилювальну дію ад'ювантних вакцин на активізацію та інтенсивність епізоотичного процесу ЦВІС, що час від часу відбувається за виробничих умов промислового свиначства. Сучасними дослідженнями з вивчення механізмів впливу бактерину на перебіг ЦВІС було доведено, що крім типу ад'юванту, істотне значення має час його введення щодо фази інфекційного процесу ЦВІС, а також вік свині [17, 153]. Було показано, що щеплення комерційною інактивованою масляною вакциною проти респіраторного мікоплазмозу свиней (вакциною проти *M. hyorhynchiae*) значно активізує розмноження ЦВС-2 в організмі щеплених свиней-вірусоносіїв і відповідно посилює важкість їх цирковірусного ураження. Водночас ця вакцина не мала жодного негативного впливу на підсвинків, вакцинованих за 2–4 тижні до зараження ЦВС-2. Було проведено дослідження для вивчення того, що більше впливає на перебіг ЦВІС – ад'ювант чи антиген інактивованої комерційної вакцини і чи є відмінності у впливі різних ад'ювантів на інцидентність ЦВІС у товарному свиначстві [17, 154]. Свиней вакцинували у 4- та 6-тижневому віці, а у віці 6-ти тижнів заражали ЦВС-2. Було встановлено, що на пізніх фазах інфекційного процесу ЦВІС (35 доба п.з.), свині, щеплені вакцинами на водно-масляних ад'ювантах, мали значно більший термін віремії ЦВС-2, значно більші титри вірусу у сироватці крові й тканинах, а також рівень спустошення лимфоїдних тканин на лімфоцити істотно перевищували ці показники у свиней, щеплених такими самими вакцинами, але виготовленими з використанням гідроксалу чи інших водних ад'ювантів.

Отже, як свідчать літературні дані з особливостей ЦВІС на популяційному рівні, на сьогодні вважається, що за епізоотологією вона є типовою факторною інфекційною хворобою [17].

5

Патології, зумовлені ЦВС

На сьогодні вчені, вивчаючи цирковірусну інфекцію свиней, дійшли висновку, що ЦВС-1 та ЦВС-2 беруть участь у різних інфекційних процесах, а саме: синдром мультисистемного виснаження поросят, дерматит і синдром нефропатії, вроджений тремор, проліферативно-некротизувальні пневмонії, міокардити і порушення репродуктивної функції та ін. [19–22, 76–78].

5.1. Синдром мультисистемного виснаження поросят

Синдром мультисистемного виснаження – захворювання поросят післявідлучного періоду, що характеризується виснаженням, задишкою, діареєю, відставанням у рості, лихоманкою, збільшенням лімфовузлів, блідістю або жовтяничністю шкіри (Clark E.G., 1997; Ellis J. et al., 1998; Harding J.C., 1997; Kiss I. et al., 2000; Darwich L. et al., 2004).

5.1.1. Епізоотологія

Цирковірус свиней 1-го типу, охарактеризований I. Tischer (1982) як нецитопатогенний контамінант перешеплюваної культури клітин РК-15, не є патогенним для свиней. Про це свідчать численні дані із зараження ЦВС-1 серонегативних поросят і відсутності у тварин клінічних ознак захворювання (Fenaux H., 2005).

Однак ретроспективні дослідження проб сироваток крові, відібраних на наявність антитіл до ЦВС-1, дають підставу вважати, що ЦВС-1 був присутній у популяції свиней принаймні з 1969 р. [23].

Про синдром виснаження у канадських свиней, зареєстрований у 1991 р. на заході Канади в БРР-стадах тварин з високим статусом здоров'я, було вперше повідомлено в 1996 р. З огляду на те, що цей

синдром характеризується такими ознаками, як виснаження, відставання в рості, відсутність апетиту, утруднене дихання, діарея, збільшення лімфатичних вузлів, жовтяниця та асоціюється з ураженнями різних систем органів і тканин поросят післявідлучного періоду, дослідники запропонували назвати його післявідлучним багатосистемним синдромом виснаження або синдромом мультисистемного виснаження післявідлучних поросят (СМВП). Термін містить фактично клінічні ознаки хвороби [21, 25, 26]. При цьому захворюванні антиген і ДНК ЦВІС виявляли в різних системах органів у свиней. Подальші виділення вірусу і його характеристика підтвердили наявність у тканинах уражених свиней ЦВС-2 [21, 27]. У 1996 р. СМВП також був виявлений на півночі Франції, однак спроби ідентифікувати збудник виявилися безуспішними [21, 28].

У 1998 р. з'являються нові повідомлення (Allan G.M. et al., 1998; Ellis J. et al., 1998; Meehan B.M. et al., 1998; Morozov I. et al., 1998), які доводять, що ЦВІС є причиною синдрому післявідлучного мультисистемного виснаження поросят [20].

Дослідження, проведені у свинарських господарствах Франції, показали майже 100% превалентність до ЦВС-2, подібні дані були отримані дослідниками з інших країн.

Перша оцінка перебігу нової хвороби була дана вже в 1999 р. [21, 24].

Спочатку СМВП діагностували на заході Канади, головним чином у стадах з високим статусом здоров'я. За даними J.A. Ellis [21, 27], синдром відзначали переважно у поросят 5–12-тижневого віку, вільних від основних кишкових і респіраторних хвороб, таких, як ензоотична пневмонія, актинобацильозна плевропневмонія, сальмонельоз, трансмісивний гастроентерит, хвороба Ауескі, атрофічний риніт, дизентерія свиней. Поросята-сисуні вражались рідко. Слід відзначити, що стада з високим статусом здоров'я та деякі інші, де був діагностований СМВП, були негативними щодо РРСС [21, 27, 29]. Ураженими виявилися стада з різним виробничим циклом і різного спрямування, тобто ті, де тварини утримувалися від опоросу до відгодівлі, від опоросу до забою, репродуктивні господарства та стада, що спеціалізуються з вирощування молодняку, а також різні за розміром – від дуже дрібних (50 свиноматок) до великих (1200 свиноматок). Така епізоотологічна інформація відсутня по інших регіонах світу, де був діагностований СМВП.

Рівень захворюваності молодняку коливається від 1% до 60%. Захворюваність і смертність, асоційовані з СМВП, варіюють залежно від стадії хвороби та умов утримання тварин. В інфікованих стадах розподіл хворих тварин у популяції часто носить дифузний характер і не обмежується певними групами [21, 30, 26]. При гострому перебігу хвороби загальний показник смертності становить 10–20%, а іноді може досягати 50–90%, тоді як показники захворюваності та смертності в ензоотичних заражених стадах є нижчими [21, 75, 30, 26].

Вірогідність зараження здорових поросят зумовлена імунним статусом тварини на період інфікування. СМВП рідко спостерігали у поросят молодше 4 тижнів, що, мабуть, пов'язано з наявністю колостральних антитіл до ЦВС-2. Ця сероконверсія зазвичай виявляється до 7–12 тижня життя тварини (Rodriguez-Arrioja M., 2002) [23].

Ймовірно, цей високий відсоток відходу тварин зумовлений і іншими одночасно циркулюючими вірусними та бактеріальними інфекціями. Такі фактори навколишнього середовища як протяг, пил, надмірна скупченість, погана вентиляція, змішання різних вікових груп тварин та інші стресові ситуації можуть збільшувати тяжкість захворювання [21, 26, 29, 32].

Також слід зазначити, що ЦВС-2 починає посилено розмножуватися при введенні поросят імуностимуляторів (гемоціаніну морського молюска з неповним ад'ювантом Фрейнда і глікану), під впливом імунізації комерційними вакцинами (Allan G.M. et al., 2000; Орлянкін Б.Г. із співавт., 2002) при зараженні поросят одночасно двома вірусами ЦВС-2 і РРСС, ЦВС-2 і парвовірусом (Allan G.M. et al., 2000; Rovira A. et al., 2002; Choi S. et al., 2004), що може пояснити високу тропність вірусу ЦВС-2 до клітин імунної системи (Sanchez R.E. et al., 2003; Rosell C. et al., 1999; Shibahara T. et al., 2000) і необхідність проходження зараженою клітиною стадії мітозу для подальшого активного розмноження вірусу (Gilpin D.F. et al., 2003) [20].

Треба відзначити так само, що стада з високим статусом здоров'я і кілька інших стад, де був діагностований СМВП, були негативними щодо РРСС (Ellis J. et al., 1998; Harding J.C. et al., 1998). Ураженими виявилися стада, де тварини утримувалися при замкнутому циклі відтворення: від опоросу до відгодівлі, від опоросу до забою, стада-розплідники, стада молодняку, незалежно від розміру стада – від дуже дрібних (50 свиноматок) до великих (1200 свиноматок) [20].

5.1.2. Патогенез

СМВП характеризується такими ключовими моментами.

1. Захворювання виявляється у відлучених поросят або на ранній стадії відгодівлі.

2. Тільки у 10–30% інфікованих природним чином свиней розвивається СМВП.

3. У природних умовах найхарактернішими ознаками є генералізоване виснаження лімфоцитів, що відбувається у первинних (тимус-) і вторинних (лімфатичні вузли, селезінка, мигдалики) лімфоїдних тканинах, а також серед лімфоцитів, що перебувають у циркуляції.

4. Експериментальне інфікування вірусом ЦВС-2 може призвести до появи СМВП. Якщо тварини коінфікуються іншими збудниками, наприклад, вірусом РРСС, захворювання протікає значно важче.

5. У свиней, хворих на СМВП, змінюється експресія мРНК цито-кінів у ряді лімфоїдних тканин і порушується вироблення цитокінів мононуклеарними клітинами крові.

6. *In vitro* ЦВС-2 змінює відповідь цитокінів мононуклеарними клітинами крові здорових тварин при їх стимуляції мітогенами.

Джерелом збудника інфекції є хворі і латентно інфіковані свині різних вікових груп, які виділяють вірус з фекаліями, сечею, слиною, носовими і очними секретами.

Геном або антигени ЦВС-2 виявляються в різних клітинах організму. Зазвичай вірусний матеріал є в цитоплазмі гістіоцитів, багатоядерних гігантських клітин та інших клітин моноцито-макрофагової лінії, таких як альвеолярні макрофаги, клітин Купфера та фолікулярні стовбурові клітини лімфоїдної тканини. Іноді можна виявити вірус у цитоплазмі нирок і клітинах респіраторного епітелію, клітинах судинного ендотелію, лімфоцитах, підшлунковій залозі або в ядрі моноцитів/макрофагів, клітинах гладкої мускулатури, печінки й ентероцитах [21, 77].

Тропізм клітин до ЦВС-2, мабуть, змінюється залежно від віку свиней. Вірус поширювався по-різному у плодів, інфікованих *in utero* на 57-й, 75-й і 92-й дні поросності. Плоди, заражені на 57-й день, мали найвищу кількість вірусу в серцевому м'язі, вірус також виявлявся в макрофагах і гепатоцитах. На більш пізніх термінах поросності і в перший день після народження клітини-мішені кардинально змінюються так, що за інфікування в перший день життя вірус виявляється переважно в макрофагах.

З приводу того, як вірус проникає в клітини і які клітинні лінії підтримують повний цикл реплікації ЦВС-2 *in vivo*, існують різні думки. Згідно з однією версією ЦВС-2 потрапляє в цитоплазму фагоцитів у результаті того, що вони здійснюють очищення інших інфікованих клітин, або через ендцитоз до пізнавання антигену клітиною [21, 33, 34]. Інша версія заснована на існуванні ЦВС-2-специфічних рецепторів на поверхні макрофагів, які дають змогу вірусу проникати в цитоплазму. Однак ці рецептори поки не ідентифіковані, і зараз вважається, що вірус може досягати цитоплазми клітин обома способами [21, 77].

Оскільки у ЦВС-2 відсутні власні полімерази, його реплікація, як і у інших цирковірусів, залежить від клітинних полімераз, що містяться в ядрі клітин у S-фазі клітинного циклу [21, 35]. Отже, найбільш підходящими клітинами для реплікації ЦВС-2 є клітини з високою мітотичною активністю. Тому, коли відбувається внутрішньоутробне зараження ЦВС-2, вірус поширюється в тканинах або клітинах з високою швидкістю мітозу, наприклад, міокардіоцитах [21, 36]. Водночас вірусний антиген не виявляється в клітинах з низькою мітотичною активністю, таких як лімфоцити у дорослих тварин. У поросят ЦВС-2 зазвичай виявляють у цитоплазмі моноцито-макрофагальні лінії клітин, у клітинах Купфера і стовбурових клітинах, і зрідка можна виявити вірус всередині ядра. Ряд авторів приходить до висновку, що здатність макрофагів до фагоцитозу залежить від наявності вірусу в цитоплазмі цих клітин, і що клітини моноцито-макрофагальної лінії не є основними у підтримці реплікації ЦВС-2 [21, 37].

ЦВС-2 часто трапляється в ядрі гепатоцитів та епітеліальних клітин [21, 38]. На доказ того, що епітеліальні клітини є основними для вірусної реплікації, можна навести той факт, що РК-15 є кращою моделлю для реплікації вірусу *in vitro*, а в природних умовах при СМВП ЦВС-2 виявляється у ядрі різних епітеліальних клітин [21, 39]. Велика кількість вірусу, виявленого в макрофагах хворих поросят, є результатом акумуляції вірусних частинок, що звільняються в результаті пролонгованої інфекції упродовж кількох тижнів перед проявом клінічних ознак. В умовах експерименту інкубаційний період триває від 2-х до 4-х тижнів [21, 40–42]. Упродовж цього часу накопичення вірусу досягає певного порога, який є пусковим механізмом клінічної хвороби.

При СМВП на клітинному рівні відбуваються такі зміни. Найхарактернішою особливістю захворювання є виснаження лімфоцитів у поєднанні з гістіоцитарною інфільтрацією. У фолікулах лімфатичних вузлів знижується кількість стовбурових клітин, паличко-ядерних клітин і міжфолікулярних лімфоцитів. Також спостерігається зменшення кількості В-клітин аж до повної їх відсутності, що пов'язано з апоптозом, зумовленим вірусом. Ступінь виснаження лімфоцитів, мабуть, залежить від стадії інфекції. При явній інфекції спостерігається найсильніше лімфоїдне виснаження у фолікулярних зонах. На початку хвороби у хворих свиней збільшується кількість клітин мононуклеарної фагоцитарної лінії. Це відповідає втраті лімфоїдних клітин у фолікулярних зонах лімфатичних вузлів та інфільтрації їх макрофагами. На завершальній стадії хвороби спостерігається скорочення і В-, і Т-популяції лімфоцитів, клітин макрофагальної лінії і втрата клітин ендотелію венул. Популяції моноцитів, макрофагів, гранулоцитів, локалізованих у тканинах кісткового мозку, навпаки, збільшуються. За втрати клітин ендотелію венул, лімфоцитам стає важче досягати лімфатичних вузлів. Цим пояснюється клітинне виснаження в лімфоїдних органах у хворих СМВП поросят [21, 34, 43].

У свиней, хворих на СМВП, спостерігається істотна перебудова гемограми. У виснажених свиней кількість лімфоцитів у крові різко падає (до 30–40%), а моноцитів і нейтрофілів підвищується (до 60–70%), хоча в нормі – навпаки. Однак загальна кількість лейкоцитів у крові не змінюється. У хворих тварин зазвичай діагностують нормоцитну гіпсохромну анемію з незначним підвищенням загальної кількості еритроцитів [21, 44, 45].

У периферичній крові у свиней, заражених ЦВС-2, відбувалися зміни у співвідношенні субпопуляцій лімфоцитів. Під час вивчення природно інфікованих свиней порівнювали клінічно здорових і виснажених тварин, позитивних чи негативних відносно ЦВС-2. В обох групах виснажених свиней спостерігали зменшення СБ4+ популяції клітин порівняно з групою здорових тварин. Водночас зменшення кількості клітин, які несуть М+, СО8+ і подвійних СО4+А18+, спостерігали тільки у виснажених ЦВС-2 позитивних свиней. Отже, зміни у кількості клітин СБ4+, мабуть, пов'язані з клінічним станом виснаження, а не зі специфічною дією ЦВС-2. Зміни субпопуляцій клітин СО8+, СО4+/СЕ8+ і М+ виявляють лише у тварин, хворих

на СМВП [21, 39]. В інших роботах було показано, що у свиней, заражених в природних умовах, у крові збільшується кількість моноцитів і гранулоцитів (СВ14+) [21, 47, 48].

Механізм розвитку лімфопенії вивчали на експериментально заражених тваринах. З'ясували, що виснаження СВ21+ і СВ3+ клітин починається на 7-й день після зараження, а на 21-й день після зараження їх кількість становить менше $0,2 \times 10^6/\text{мл}$ і $0,5 \times 10^6/\text{мл}$ для В- і Т-клітин відповідно. Також, як і за природного зараження, було виявлено сильне зниження кількості СЕ4+, СЕ8+, і СЕ4+/СЕ8+ субпопуляції клітин, причому ще більше зниження кількості спостерігали у субпопуляції СЕ4+/СЕ8+ клітин пам'яті. Зміни на ранній стадії (7-й день після зараження) зачіпають більше В-клітини і СЕ4+/СО8+ клітини, ніж інші субпопуляції лімфоцитів. Кількість природних кілерів також помітно знижується аж до повного зникнення до 21-го дня у свиней з яскраво вираженим СМВП [21, 49].

За субклінічного перебігу СМВП, якщо тварини не проявляли клінічних ознак або проявляли їх слабо, кількість СО8+ клітин залежала від стадії хвороби. Так, на 21-й день після зараження при максимальному накопиченні вірусу в крові, кількість СЕ8+ клітин дещо знижувалася порівняно з контролем (17% і 22% відповідно). На 70-й день після зараження у свиней було нормальне число СЕ8+ клітин, тобто цей показник корелював з віремією. Цікаво, що у свиней, які не виявляють картини СМВП, співвідношення В-клітин поступово знижувалося до 70-го дня після зараження [21, 46, 50].

Перелічені клітини і тканини організму відіграють центральну роль у патогенезі СМВП, але досі не ясно, як ЦВС-2 впливає на ці субпопуляції: за допомогою інфікування, апоптозу або іншими механізмами [21, 77].

У свиней, хворих на СМВП, змінюється система експресії мРНК цитокінів у різних лімфоїдних тканинах. Ураження пов'язані з надмірною експресією мРНК у тимусі та в мигдалинах. З цим пов'язують виснаження і атрофію тимуса у хворих тварин. Зниження експресії мРНК спостерігають у селезінці, мигдалинах і лімфатичних вузлах.

Слід відзначити, що рівень мРНК був високим у тканинах з незначними ураженнями і невеликою кількістю вірусу та низьким у тканинах з серйозними ураженнями [21, 44]. Інші автори виявили високий рівень моноцитного хемоатрактантного протеїну-1 [21, 51]. Парадоксально, що ЦВС-2 самостійно змінює секрецію цитокінів не-

залежно від імунного статусу свиней (є вони здоровими або хворими), але тільки у частини інфікованих тварин розвивається СМВП. Очевидно, що протягом інфекції одні тварини здатні підтримувати рівновагу імунної системи, інші – ні. Щоб пояснити це, висувають теорію існування стороннього фактора імуностимуляції. Ця особливість СМВП широко дискутується [21, 52, 53, 72]. Правомірність цієї теорії підтверджується численними спостереженнями, згідно з якими для розвитку картини СМВП потрібно коінфікувати іншими організмами [21, 54, 55]. Проте вона спростовується тією обставиною, що повну картину СМВП вдавалося відтворити під час зараження одним тільки ЦВС-2 поросят, позбавлених молозива [21, 56–58, 78].

Інша гіпотеза заснована на впливі генетичних факторів. Якщо вони відіграють провідну роль, то на чутливість тварин до СМВП мають впливати індивідуальні чи породні особливості, хоча не було повідомлень про більшу чутливість одних порід свиней порівняно з іншими. Кандидатами генетичних факторів можуть бути: поліморфізм комплексів гістосумісності, Т-клітинні рецептори або гени цитокінів. Відомо, що поліморфізм генів комплексу гістосумісності визначає чутливість людей та інших тварин до деяких вірусних інфекцій [21, 59, 60].

Розвиток цієї інфекції є результатом взаємодії патогена та імунної системи господаря. У тому разі, якщо імунна система ефективно блокує і знищує патоген, то вірулентність дії збудника не виявляється. Очевидно, що імунна система відіграє центральну роль у па-тогенезі СМВП. Проте поки не ясно, чому тільки у деяких тварин, інфікованих ЦВС-2, розвивається хвороба і який механізм лежить в основі цього процесу [21].

5.1.3. Клінічні ознаки

СМВП характеризується тривалим інкубаційним періодом, тенденцією до поширення серед поросят, що містяться спільно в обмеженому просторі, і не вражає тварин, що утримуються окремо (Сатіна Т.А., 2003) [23].

Основним клінічним симптомом при СМВП є виснаження тварин. Найчастіше вражаються поросята, які до моменту відбирання добре розвинені. Тварини починають втрачати у вазі, що може тривати тижнями і приводить на кінцевій стадії хвороби до яскраво вираженої клінічної картини (Carrasco L. et al., 2000; Daft B. et al.,

1996; LeCann P. et al., 1997; Segales J. et al., 1997). Дуже часто у хворих тварин спостерігається задишка, яка іноді може загрожувати життю тварини. При цьому може розвиватися легенева недостатність (Darwich L. et al., 2004). У рамках вторинних бактеріальних інфекцій, що спричиняються патогенними для легень збудниками, разом із задишкою може з'явитися і кашель.

Як показали дослідження P.A. Harms et al. (2001), які вивчали на 3-тижневих безмолозивних поросятах патогенну дію вірусів РРСС і ЦВС-2 окремо і при комбінованому зараженні, у молодняку, інфікованого тільки ЦВС-2, спостерігали пригнічення, спорадичну жовтяницю, у 42% тварин – ексудативний епідерміт. Смертність досягала 26%. У молодняку, зараженого лише вірусом РРСС, реєстрували тільки задишку і слабе пригнічення, яке закінчувалося одужанням до 28-го дня. При зараженні поросят обома збудниками, до 10-го дня відзначали важку задишку, пригнічення, рідко жовтяницю, через 10 днів смертність становила 91%, і всі тварини гинули до 20-го дня. Гістологічні ушкодження, характерні для СМВП, спостерігали у поросят, заражених як вірусом ЦВС-2, так і в асоціації з вірусом РРСС. Вони включали лімфоїдне виснаження, некротизуючий гепатит, легкий некротизуючий бронхіоліт та інфільтрацію макрофагів, які періодично містили базофільні внутрішньоцитоплазматичні тільця-включення в лімфоїдні та інших тканинах. При інфікуванні молодняку ЦВС-2 і збудником РРСС реєстрували важку проліферативну інтерстиціальну пневмонію та більше характерне ураження печінки. У поросят, заражених тільки вірусом РРСС, спостерігали помірну проліферативну інтерстиціальну пневмонію, але без розвитку бронхіолітичних, гепатичних поразок і лімфоїдного виснаження. Отже, ЦВС-2 посилює тяжкість вияву інтерстиціальної пневмонії, зумовленої вірусом РРСС, і саме ЦВС-2, а не РРСС індукує лімфоїдне виснаження, гранульоматозне запалення і некротичний гепатит, характерні для СМВП (Harms P. Aetal., 2001).

Крім того, у хворих тварин спостерігається анемія, яка не є, як правило, регенеративною і часто супроводжується лейкопенією, а так само збільшенням пахових вузлів (LeCann P. et al., 1997; Segales J. et al., 1997; Darwich L. et al., 2004).

До клінічних ознак СМВП належить так само і діарея, при якій не виявляється інших ентеропатогенних збудників. В уражених тварин спостерігається зневоднення і жовтушність шкіри (Daft B. et

al., 1996; LeCann P. et al., 1997; Sorden S.D. et al., 1999) [20, 21, 32, 26]. Зрідка у свиней може спостерігатися підвищення температури, ознаки ураження центральної нервової системи і раптова смерть [21, 62]. У неблагополучних господарствах ці основні симптоми необов'язкові для кожної хворої тварини, спостерігаються в різній комбінації і виявляються через певний проміжок часу [20, 21].

Рівень захворюваності молодняку в господарствах коливається від 1% до 60% (Clark E.G., 1997). Захворюваність і смертність, асоційовані з СМВП, варіюють залежно від стадії хвороби та умов утримання тварин. В уражених стадах розподіл хворих тварин у популяції часто носить дифузний характер і не обмежується певними групами. При гострому перебігу хвороби загальний показник смертності може становити 10–20%, а іноді рівень смертності може досягати 50–90% (Allan G.M., Ellis J.A., 2000; Clark E.G., 1997).

Імовірно, цей високий відсоток відходу тварин зумовлений і іншими вірусними та бактеріальними ко-інфекціями, які з'являються одночасно. Такі фактори навколишнього середовища, як протяг, пил, надмірна скученість, погана вентиляція, змішування різних груп тварин та інші стресові ситуації, можуть збільшити тяжкість захворювання (Harding J.C. et al., 1998; Segales J. et al., 1997) [20, 21, 26, 29, 32].

До 20% поросят із СМВП можуть одужувати. У тварин, що пере-хворіли клінічні ознаки і лімфодні зміни можуть мати схожість з такими в початковій стадії хвороби. Ці спостереження ставлять питання про те, що вважати гострою, а що хронічною формою хворо-би, зумовленої ЦВС-2. Поки було запропоновано розглядати перебіг хвороби як ранню або пізню стадії [21, 61, 77].

5.1.4. Експериментальна інфекція СМВП

Перші експерименти із зараження поросят тільки ЦВС-2 призводили до розвитку лише дуже слабких клінічних ознак і незначних гістологічних змін [7, 21, 62]. Однак як тільки до ЦВС-2 додавали інший інфекційний агент, наприклад, парвовірус свиней [21, 54] або вірус РРСС [21, 63, 64] у поросят розвивалися яскраві клінічні ознаки й ураження, властиві СМВП, причому як у звичайних тварин, так і у гнотобіотів. Отже, було показано, що ЦВС-2 не може спричиняти хворобу самостійно і потребує допомоги інших інфекційних агентів.

Іншим додатковим фактором для відтворення хвороби є стимуляція імунної системи. Це було доведено в експериментах, де відзначалося посилене розмноження ЦВС-2 у поросят-гнотобіотів після підшкірного введення гемоціаніну морського моллюска з неповним ад'ювантом Фрейнда [21, 53]. Через 2 тижні після зараження у імуностимульованих тварин у лімфовузлах вірус накопичувався в титрі 4–6 ТЦД₅₀/г тканини, а з протилежного боку тіла в аналогічних лімфовузлах – не більше 2 ТЦД₅₀/г тканини. При 2-кратній імуностимуляції поросят і додатковому введенні глікану в черевну порожнину для стимуляції перитонеальних макрофагів через 4–5 тижнів після зараження спостерігався розвиток клінічних ознак хвороби; в пахових, передлопаткових, підщелепових, бронхіальних і мезентеріальних лімфовузлах, селезінці й печінці ЦВС-2 накопичувався в титрі 7–8 ТЦД₅₀/г тканини. У неімуностимульованих поросят вірус накопичувався у тих самих лімфатичних тканинах і органах, але у 100–1000 разів менших кількостях, і спостерігався лише субклінічний перебіг ЦВС інфекції. Автори вважають, що активація імунної системи, що супроводжується розмноженням макрофагів і лімфоцитів, є необхідною умовою для розвитку СМВП.

Ця гіпотеза була підтверджена в польових умовах. Розвиток СМВП під впливом імунізації комерційними вакцинами досліджували на поросятах, відібраних від матерів у 10-добовому віці з титром антитіл у МФА 1: 50–1: 3200. Усіх поросят інфікували ЦВС-2 у 10-добовому віці і половину з них імунізували проти *Mycoplasma hyopneumoniae* на 13-ту і 31-шу і проти *Haemophilus parasuis* – на 47-му добу життя. У групі вакцинованих поросят у 21% тварин розвинулися клінічні ознаки хвороби, і вони загинули. У тканинах загиблих тварин було виявлено велику кількість антигену ЦВС-2. У групі невакцинованих поросят захворювання не спостерігалось [21, 64]. Krakowka [21, 52] зазначає, що застосування імуносупресорів, таких як циклоспорин, спричиняє яскраво виражений ефект реплікації ЦВС-2. Свині, заражені ЦВС-2 і одночасно оброблені циклоспорином, мали вищі титри вірусу в тканинах та істотніше поширення ЦВС-2 в гепатоцитах і у клітинах Купфера. Крім того, в оброблених циклоспорином свиней майже повністю були відсутні лімфоцитарні і гістіоцитарні інфільтрації в нелімфоїдних тканинах. Такі результати говорять про те, що Т-клітини відіграють вирішальну роль у розвитку СМВП [21, 77].

Деяким дослідникам вдалося відтворити СМВП у поросят у результаті зараження одним тільки ЦВС-2 [21, 42, 57, 78]. Однак використовувана експериментальна модель відтворення СМВП на гнотобіотах при зараженні ЦВС-2 і гемоціаніном морського моллюска з неповним ад'ювантом Фрейнда [21, 53] абсолютно не придатна стосовно SPF або звичайних поросят [21, 57].

У повідомленні [21, 62] було підтверджено відтворення уражень, типових для СМВП, у 8-тижневих поросят, вирощених у нормальних умовах, яким були введені гомогенати тканин, що містили ЦВС-2, отримані від хворих на МВП тварин у польових умовах. Після чого у поросят спостерігали помірні клінічні ознаки або їх відсутність. У цих умовах не можна було повністю виключити залучення інших інфекційних агентів на додаток до ЦВС-2.

На підставі отриманих результатів, автори дійшли висновку, що зараження поросят інфекційними агентами і/або невідомими факторами навколишнього середовища, стимулюючими імунну систему, в поєднанні з зараженням ЦВС-2 є необхідним у розвитку клінічної картини хвороби. Супутнє інфікування ПВІС, РРСС та ін. підсилює тяжкість поразок, а це дає змогу припустити, що додаткові фактори відіграють важливу роль у патогенезі СМВП [21].

5.1.5. Патолого-анатомічні зміни

Найчастіше зустрічаються при СМВП ураження легень і лімфатичних вузлів. Під час розтину заражених тварин виявляють спалі легені з ателектазними ділянками в краніальних і середніх частках. Верхівкові частки можуть бути ущільнені внаслідок виникнення вторинних інфекцій бактеріальної етіології. У хворих тварин часто відзначають багатовогнищеві пневмонії з виявленням при гістологічному дослідженні великої кількості гігантських клітин.

При патолого-анатомічному огляді характерними ознаками, які виявляються при СМВП, є зміни лімфатичних вузлів. У інфікованих тварин відзначається системна лімфаденопатія мезентеріальних, медіастинальних, пахових та бронхіальних лімфовузлів.

Лімфатичні вузли гомогенні, гіперплазовані і мають біло-жовтий колір (Helie P. et al., 1995; Sato K. et al., 2001) [23], збільшені в 3–5 разів [21].

Як показано в роботі M. Kiupel et al. (2005), в лімфоїдних тканинах відзначаються численний апоптоз і деплеції лімфоцитів. Мето-

дом імуногістохімії показано присутність антигену ЦВС-2 переважно в цитоплазмі макрофагів і гігантських клітин у вигляді круглих тілець-включень, що являють собою скупчення великої кількості вірусних частинок.

Мікроскопічні зміни виявляють у нирках, печінці, підшлунковій залозі та лімфоїдних органах. У всіх тканинах відзначають лімфоцитарно-гістіоцитарні інфільтрації (Chianini F., 2002; Okuda K. et al., 2001).

Гістологічно зміни в нирках проявляються виникненням білих вузликів у кірковому шарі з одночасним розростанням сполучної тканини в нирковій мисці. Найважчі порушення функції нирок і патологічні зміни спостерігають при дерматиті з синдромом нефропатії (ДСНП) (Sugiyama S., 2004).

Ураження печінки за СМВП можуть виявлятися різною мірою. У ряді робіт (Такуя Н. et al., 2003) описані зміни печінки, починаючи від лімфогістіоцитарної інфільтрації портальних зон і некрозу гепатоцитів, на ранніх стадіях патологічного процесу, й закінчуючи каріомегалією гепатоцитів і заміщенням їх гістіоцитами, аж до фіброзу.

Зміни в структурі шлунково-кишкового тракту проявляються у вигляді виразки слизової оболонки стравоходу негеморагічного характеру та її набряком. Мікроскопічно, поряд з лімфогістіоцитарною інфільтрацією, виявляють атрофію війок з регенерацією гранулярних і крипталних епітеліальних клітин.

Патологічні зміни підшлункової залози не є типовими для СМВП. Однак у кількох випадках відзначали багатовогнищеву атрофію або регенерацію ацинозного або каналцевого епітелію.

У роботі Р.Е. Рінеуро (2007) методом імуногістохімії (ІГХ) було показано, що патологічні зміни респіраторних органів, асоційовані з ЦВС-2, траплялися в 46,9% випадків; гемопоетичних тканин у 40,8; в органах травної системи в 26,9; сечостатевої системи в 23,5%. Більшу частину мікроскопічних змін спостерігали в лімфоїдних тканинах: у селезінці в 100%, лімфатичних вузлах у 93,3, мигдаликах у 79,2 і пейерових бляшках у 46,4% випадків.

У ряді робіт описані випадки виникнення міокардитів, пов'язані з ЦВС-2. Міокардити характеризувалися розвитком багатовогнищєвого фібрoneкрозу і інфільтрацією органу мононуклеарними лейкоцитами (Brunborg I.M. et al., 2007; Finlaison D.S. et al., 2007) [23].

При СМВП спостерігаються значні зміни в органах і тканинах. Так, у крові та лімфоїдних тканинах відбувається зміна співвідно-

шення лімфоцитів (зміст яких сильно знижується) до моноцитів і нейтрофілів (кількість яких збільшується). Їх співвідношення у хворих тварин може становити 60–70% нейтрофілів і 30–40% лімфоцитів, тоді як у здорових воно протилежне. Водночас загальна кількість лейкоцитів залишається незмінною (Darwich L. et al., 2004). При цьому у тварин у гострій фазі відзначаються випадки анемії.

Гістологічні дані дають змогу припустити, що ЦВС-2 індукує в інфікованих свиней системну імуносупресію, це робить їх сприйнятливішими до зараження різними патогенами (Sato K., et al., 2000; Shibahara T. et al., 2000). Оскільки ЦВС антигени є і в епітелії киш-ківнику, то фекалії можуть відігравати значну роль у поширенні ЦВС-2 [20].

З огляду на те, що при СМВП уражаються органи різних систем і особливість прояву залежить від багатьох факторів, в ендемічних господарствах патолого-анатомічні зміни можуть спостерігатися в різних комбінаціях та різного ступеня інтенсивності [23].

5.2. Дерматит і синдром нефропатії поросят

ДСНП – порівняно нове й часто фатальне захворювання, переважно вражає поросят у період відлучення і відгодівлі (з 1,5 до 4 міс.) [21, 65, 66]. Синдром був вперше виявлений у Великій Британії у 1993 р. [21, 65]. Однак аналогічні прояви хвороби були також відзначені у 1976 р. в Чилі (Morales S. et al., 1999; Guzman V.H. et al., 2001) [23]. Його реєстрували також у Канаді (Helie P. et al., 1995), Південній Африці, Іспанії (Sierra P. et al., 1997; Segales J. et al., 1996, 1997, Хорватії (Grabavarevic Z., 2004), США, Чилі, Нідерланди (Elbers A.R. et al., 2000), Франції, Італії, Аргентині та Новій Зеландії [19, 21, 23]. Існують досить суперечливі дані стосовно ролі ЦВС-2 в патогенезі цього захворювання. З одного боку, численними дослідженнями показано наявність ЦВС-2 у всіх випадках ДСНП, проте значення вірусного навантаження ЦВС-2 у хворих тварин не істотно відрізнялося від його рівня у тварин з субклінічною стадією захворювання (Olver N., 2004; Metz H., 2005; Molnar T. et al., 2002; Choi C. et al., 2002, Schmoll F. et al., 2003). Існують припущення про можливість впливу ЦВС-2 на виникнення реакцій гіперчутливості III типу (Meerts P., 2005). Під час порівняння патолого-анатомічних змін внутрішніх органів у свиней при ДСНП виявляли їх схожість з ураженнями, відзначеними у тварин

інших видів (Janeway C. et al., 2001) при алергічних реакціях. У патогенезі ДСНП важливу роль відіграє асоціація ЦВС-2 з іншими патогенами. За випадків ДСНП, описаних в Іспанії та Шотландії, мали місце форми вияву захворювання, асоційовані з вірусом репродуктивно-респіраторного синдрому свиней, *Pasteurella multocida* і стрептококовою інфекцією (Drolet R. et al., 2004) [23].

ДСНП – захворювання, опосередковане імунною системою, вражає шкіру і нирки. Типові клінічні ознаки являють собою зміни на шкірі, що складаються на початку захворювання лише з дрібних червоних папул (висипу) в клубовій і періанальній ділянках, які можуть швидко збільшуватися до еритематозних бляшок, зливатися та поширюватися на живіт, груди й кінцівки [21]. Також плями локалізуються у ділянці попереку, медіальній поверхні задніх кінцівок, у ділянці хвоста, уздовж живота й вух (Allan G.M. et al., 2000; Duran M. et al., 1995; Meehan B.M. et al., 2001; Smith W.J. et al., 1993) [23]. У поросят з гострою формою хвороби спостерігають анорексію, депресію, скуту ходу, підвищення температури тіла. В смертельних випадках у поросят виявляли у сечі високий рівень гемоглобіну і креатиніну. Це означало, що причиною смерті уражених тварин були ниркові порушення.

Хвороба проявляється спорадично й вражає насамперед тварин у ваговій категорії від 20 до 65 кг. При цьому рівень захворюваності низький і становить 1–2%. Однак смертність іноді становить 100%. Є повідомлення про рівень захворюваності поросят у США від 0,25 до 20% [21].

Клінічну картину ДСНП складно відрізнити від гострої форми класичної чуми свиней (КЧС), тому наявність КЧС в кожному випадку виключають у результаті проведення відповідних вірусологічних досліджень (Hinrichs U. et al., 2000) [20].

Характерним ураженням при ДСНП є системний некротизуючий васкуліт у шкірі та нирках. Спостерігається збільшення лімфовузлів, підшкірний набряк, іноді виразки в шлунку, некроз у селезінці [21, 22, 65, 66, 76]. Нирки у хворих тварин збільшені, набряклі, з точковими крововиливами. Під'язикові, підщелепові, мезентеріальні та перитоніальні лімфатичні вузли гіперплазовані і геморагічні. Легені набряклі, червонуватого кольору. Відзначають численні крововиливи на слизовій і серозній оболонках. Нерідко спостерігають утворення виразок на слизовій оболонці кишківнику в ділянці іле-

оцекального клапана. У порожнинах тіла тварини наявна надмірна кількість транссудату, констатують набряк підшкірної клітковини та збільшення синовіальної рідини (Сатіна Т.А., 2003) [23].

Мікроскопічні зміни при ДСНП виявляються ексудативними інтра- і екстракапілярними гломерулонефритами, які зумовлені циркуляцією імунних комплексів (Grabavarevic Z. et al., 2004; Sierra M.A. et al., 1997). На пошкоджених ділянках шкіри відзначають системний некротизуючий васкуліт дрібних і середніх артерій, спільно з вогнищевими некрозами різних шарів епідермісу. Зміни в лімфатичних вузлах схожі з такими як при СМВП. У спорадичних випадках спостерігають склероз селезінки.

Існує чіткий зв'язок між ДСНП і ЦВС-2. Антиген ЦВС-2 та/або нуклеїнова кислота виявляються в тканинах поросят, хворих ДСНП [21, 38].

5.3. Інфекційні вроджені тремори (ВТ) або конгенітальний тремор (КТ)

У 1994 р. з'явилося повідомлення про те, що ЦВС є причиною вродженого тремору у новонароджених поросят (Hines R.K., 1994) [20]. Першими, хто повідомили про можливий зв'язок ЦВС-2 з ВТ, були Niñes і Lukert [21, 68].

Конгенітальні тремори (КТ) переважно виявляються у новонароджених поросят і проявляються клонічними судорогами скелетної мускулатури голови і кінцівок. Описані форми треморів опосередковані появою морфологічних змін (тип А) і з відсутністю будь-яких ушкоджень (тип В) (Kennedi S. et al., 2003).

Превалентність серед інфікованих тварин сильно варіює від 0 до 100%. Зареєстрована смертність у межах 50%.

Летальний результат захворювання зумовлений нездатністю новонароджених поросят смоктати свиноматку (Stevenson G.W. et al., 2001). У більшості випадків поросята одужують у віці 3–5 тижнів, хоча були відзначені випадки захворювання відлучених поросят і на періоді відгодівлі (Lukert P. et al., 1999; Allan G.M., 1999).

Основною причиною виникнення тремору є дефіцитна або патологічна мієлінізація рухових нейронів спинного мозку у новонароджених поросят. Цьому можуть сприяти генетичні порушення (Stevenson G.W. et al., 2001; Patterson L., 1973; Harding J., 1973),

токсикози свиноматок (Кнох, 1978), внутрішньоутробне зараження свиноматок вірусом класичної чуми свиней (Harding J., 1973) або вірусом хвороби Ауескі (Stevenson G.W. et al., 2001).

Дані, що стосуються ролі ЦВС-2 в патогенезі конгенітального тремору, досить суперечливі. З одного боку, в роботі G.W. Stevenson et al. (2001) під час дослідження дводенних поросят з ознаками конгенітального тремору (тип А) з використанням методів гібридизації *in situ*, ПЛР та РІФ вдалося показати наявність ЦВС в тканинах тварин, за відсутності інших патогенів. З другого боку, на підставі досліджень 40 поросят з КТ S. Kennedy зі співавторами повідомили, що наявність ЦВС-2 в тканинах тварин не є обов'язковою умовою виникнення захворювання (Kennedy S. et al., 2003) [23].

5.4. Проліферативно-некротизуюча пневмонія свиней (ПНПС)

Проліферативно-некротизуюча пневмонія свиней (ПНПС, porcine proliferative and necrotizing pneumonia) – порівняно нова інфекційна патологія, що виявляється проліферативно-некротичним запаленням легеневої тканини у поросят післявідлучного періоду. Перші спалахи цієї хвороби зареєстрували в 1988 р. у Канаді (Halbur P.G. et al., 1993). З огляду на це більшість робіт, присвячених ПНП свиней, опубліковано канадськими дослідниками (Bikour M.H. et al., 1994; Drolet R. et al., 2003; Ellis J. et al., 2004; Ellis J.A. et al., 1999; Larochelle R. et al., 1994).

ПНП клінічно виявляється, як правило, у підсвинків старшого віку або на середній стадії відгодівлі (за маси тіла 25–50 кг), рідко у поросят-сисунів, у свиней на кінцевій стадії відгодівлі або племінних тварин (Кукушкін С.А. зі співавт., 2005). Збільшення випадків інфекції відзначають у сиру і холодну пору року. ПНП виникає несподівано, в групі відгодівельних свиней впродовж тижня починають хворіти всі тварини. Хвороба протікає дуже важко, тварини, як правило, лежать, спостерігається утруднене дихання, що супроводжується кашлем, у деяких тварин температура тіла підвищується до 41 °С. Одуження йде дуже повільно, при цьому окремі особини відстають у рості. При патолого-анатомічному розтині виявляють зміни, характерні тільки для цієї патології: обидві легені набряклі з червоно-фіолетовими плямами, частково сіро-коричневого кольору,

легенева тканина гумоподібної консистенції, в краніальних частках можуть бути гнійні запалення, спричинені вторинною інфекцією (Кукушкін С.А. зі співавт., 2005).

Мікроскопічно (гістологічно) ПНП характеризується гіпертрофією і гіперплазією пневмоцитів II типу, коагуляцією некротичних клітин в альвеолах, синтиціальних клітинах і некрозом епітелію в респіраторному тракті та кінцевих бронхіолах (Кукушкін С.А. зі співавт., 2005).

Донедавна питання про збудника цієї нової патології залишалось відкритим. При первинних дослідженнях гострих спалахів ПНП у 1990–1992 рр. вчені неодноразово виявляли нові типи вірусу грипу А свиней, до цього не зареєстрованих у Канаді (Bikour M.H. et al., 1994; Segales J. et al., 2004). Пізніше (після 1994 р.) стали частіше виділяти вірус РРСС і ЦВС-2 (Drolet R. et al., 2003; Magar R. et al., 1995).

Р. Drolet зі співавт. (2003), під час дослідження проб легеневої тканини 60-ти хворих на ПНП свиней, у 55-ти випадках (92%) виявили вірус РРСС, у 25 (42%) – ЦВС-2 і лише у 1 (2%) – вірус грипу. У 30 випадках (50%) виявили тільки вірус РРСС, а в 25 інших (42%) – комбінацію вірусів РРСС і ЦВС-2. Усі проби позитивні по ЦВС-2 були від поросят післявідлучного періоду і завжди в асоціації з вірусом РРСС. Останнім часом дослідники ПНП сходяться на думці, що ця патологія – результат асоційованої інфекції, зумовленої вірусами РРСС і ЦВС-2. Певну роль у ній можуть відігравати вірус грипу А свиней і деякі інші збудники респіраторних хвороб свиней. Діагноз на ПНП ставлять комплексно на підставі епізоотологічних та клінічних даних, макро- і мікроскопічних змін у легенях, а також вірусологічних досліджень (Кукушкін С.А. зі співавт., 2005) [20].

5.5. Комплекс респіраторної патології свиней (КРПС)

Термін комплекс респіраторної патології свиней (КРПС) включає в себе порушення функцій респіраторної системи різної етіології у поросят на стадії дорошування і відгодівлі. Захворювання характеризується такими клінічними ознаками, як відставання в рості, млявість тварин, субфебрильна лихоманка, анорексія, задишка (Thacker- Н., 2001). Велике значення для розвитку КРПС має взаємодія різних патогенів як вірусної, так і бактеріальної природи, таких як *M. hyor-*

neumoniae в асоціації з *P. multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* і *Streptococcus suis*. Випадки ензоотичних пневмоній, які є результатом КРПС, спостерігали в господарствах за наявності у тварин вірусу грипу свиней, ВРРСС, ЦВС-2 (Halbur J., 2001, Thacker H., 2001). Недавні дослідження 105 випадків КРПС показали, що ЦВС-2 було виявлено у 81%, ВРРСС – у 63, ПВС – у 57, вірус грипу свиней – у 13% випадків. Цікаво, що одночасну наявність у тварин ЦВС-2 і ВРРСС спостерігали в 55% випадків. ЦВС-2 переважно знаходили в ядрах альвеолярних макрофагів і цитоплазмі лімфоїдних клітин (Kim S., 2001, Rosell M., 2001).

У роботі R. Drolet et al. (2003) висловлено думку про можливість впливу ЦВС-2 на розвиток проліферативних і некротизуючих пневмоній у поросят (ПНП). ПНП були вперше описані в Канаді у 1990 році у поросят 4–10-тижневого віку. Крім загальних клінічних симптомів, які спостерігаються при респіраторній патології, для ПНП були описані характерні мікроскопічні пошкодження: дегенеративні зміни внутрішньої структури легенів, скупчення фібрину і некротичних клітин в альвеолярному просторі, дифузні або локальні проліферації бронхіоальвеолярного епітелію, збільшення середостіння та бронхіальних лімфатичних вузлів з вираженими геморагіями (Daft B. et al., 1996).

R. Morin (2001) від тварин з ознаками ПНП були виділені *P. multocida*, *Haemophilus parasuis*, *Pneumocystis carinii*, *S. suis* тип 2, *M. hyopneumoniae*, ВРРСС, ПВС, вірус грипу тип А. У цих дослідженнях також повідомлялося про появу випадків муміфікації плодів, на-родження мертвих плодів та абортів свиноматок з респіраторними порушеннями.

На сьогодні залишається до кінця не відомим, чи є ЦВС-2 першо-причиною, вторинним або опортуністичним інфекційним агентом у патогенезі ПНП і КРПС.

Пневмонії та різні патології органів респіраторної системи, асоційовані з ЦВС-2, можуть бути важливим аспектом у розумінні причин виникнення КРПС (Ellis J. et al., 2000) [23].

5.6. Порушення репродуктивної функції

Перші відомості про виявлення Ат до ЦВС-2 у абортуючих свиноматок і у мертвонароджених поросят були відзначені G.M. Allan у

1995 р. Подальші дослідження порушень репродуктивної функції у свиноматок, проведені J. Bogdan et al. (2001) у період 1995–1998 рр., свідчили про зв'язок цієї патології з ЦВС-2 і трактували її як новий вияв дії вірусу. У господарствах з частими випадками прояву патології репродуктивної системи були виявлені ЦВС-2, вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (ВРРСС) і парвовірус свиней (ПВС) (O'Connor, 2001).

Причиною абортів і патології розвитку плода, можливо, є проникнення ЦВС-2 через плаценту і репродукція його в тканинах плода (Pensaert M., 2001; Sanchez R.E. et al., 2001). ЦВС-2 здатний інфікувати ембріон, однак це не означає розвиток хвороби і смерть. Ат до ЦВС-2 були виявлені й у клінічно здорових поросят (Sanchez R.E. et al., 2001).

Основним аспектом потенційної патогенності ЦВС-2 є вік плоду на стадії інфікування та імунний статус організму загалом. Численними дослідженнями з експериментального відтворення захворювання показано, що зараження супоросних свиноматок на пізніх стадіях вагітності призводить до виникнення абортів і народження муміфікованих або нежиттєздатних поросят (Pensaert M. et al., 2004; Johnson J. et al., 2002; Sanchez R.E. et al., 2001, 2003, 2004; Mateusen D. et al., 2004.)

У абортіваних плодів ЦВС-2 був виявлений в серці, печінці, легенях і нирках при відсутності інших патогенів (West K., 1999, Park S., 2005; Sanchez R.E. et al., 2001). У роботі K. West (1999) на основі виявлених змін у серці при ЦВС-2 інфекції в ембріонів, висловлено припущення, що серцевий м'яз є мішенню для репродукції ЦВС-2 (West K., 1999, Sanchez R.E. et al., 2001). Кардіоваскулярні зміни проявляються гранулематозними і некротизуючими лімфаденітами за наявності ЦВС-2 відзначалися і у поросят 4–8-денного віку (Mikami S. et al., 2005, Oppreising T., 2006) [23].

Крім перерахованих вище синдромів було виявлено участь ЦВС-2 в інших клінічних проявах у свиней, таких як гранулематозний ентерит, ексудативний епідерміт, некротизуючий лімфаденіт, некротизуючий трахеїт [21, 76, 77]. Однак наявність специфічних антитіл у стадах без клінічних ознак виразно показує, що ЦВС-2 не здатний спричинити тяжкі клінічні прояви самостійно. Крім того, потенційний зв'язок між імунною стимуляцією, вакцинацією і переважання клітинно опосередкованої форми гуморального імунітету є вірогід-

ним поясненням появи численних, пов'язаних з ЦВС-2, синдромів [21, 22, 75].

Вплив ЦВС-2 на виникнення репродуктивних патологій залишається до кінця невідомим. Введення в групи тварин з циркулюючими Ат до ЦВС-2 серонегативних ремонтних свиноматок може бути визначальним аспектом розвитку трансплацентарної інфекції (O'Connor et al., 2001; Mateusen L. et al., 2004) [23].

5.7. Змішані інфекції

Участь ЦВС-2 в патогенезі кількох захворювань викликало бурхливу реакцію світової наукової громадськості в галузі вивчення цієї проблеми. Участь ЦВС-2 в інфекційному процесі здатне змінювати клінічну картину захворювання, що призводить до труднощів у постановці діагнозу (Allan G.M., 2000; Carrasco L. et al., 2000).

У недавніх дослідженнях ЦВС-2 був виявлений при таких захворюваннях, як ексудативний епідерміт і ентерити (Watrang J. et al., 2002; Kim T., 2004). Основним збудником ексудативного епідерміту у поросят-сисунів визнаний *Staphylococcus hyicus* (Sato K. et al., 2000; Wegener O. et al., 1999). Своєю чергою причиною виникнення ентеритів можуть бути *Yersinia pseudotuberculosis* (Slee B., 1990), *Salmonella enterica*, *Lawsonia intracellularis* (Duhamel M., 1999). Яку роль відіграє ЦВС-2 в патогенезі цих захворювань нині невідомо (Gelmetti D. et al., 2000; Sorden S.D. et al., 1998).

У роботі R. Pogranichniy et al. (2002) представлено дані про випадки виявлення СМВП за наявності у тварин ЦВС-2 і різних вірусів свиней, таких як вірус репродуктивно-респіраторного синдрому свиней (ВРПС), парвовірус свиней, ентеровіруси свиней 1–3-го ти-пів (ЕВС), вірус грипу свиней (ВГС), вірус трансмісивного гастро-ентериту свиней (ВТГЕС), герпесвірус свиней 1-го типу (ГВП-1), ендемічний ретровірус свиней (ЕРВС) і вірус діареї (ВД). На думку авторів, ЦВС-2 поряд з ЕРВС є убіквітарним вірусним агентом, виявленим у популяціях свиней по всьому світу. Виникнення СМВП дослідники пояснюють присутністю ВРПС – у 42% випадків і меншою мірою ВГС-1 – у 23 та ЕВС – у 13% випадків (Pogranichniy R. et al., 2002) [23].

6

Цирковірус людини

Дані, отримані дослідниками за останні кілька років свідчать про існування ще одного представника родини цирковірусів. Цей вірус був ідентифікований в Японії у 1997 р. у людини з посттрансфузійним гепатитом і названий ТТ. Подальше вивчення молекулярних та біофізичних властивостей вірусу дало можливість показати аналогічну будову віріонів ТТ з цирковірусами тварин. Однак геном вірусу представлений молекулою одноланцюгової ДНК розміром 3750–3852 нуклеотидів, що дещо більше розміру типового для цирковірусів тварин (1759–2200 н.). Рішенням Міжнародного Комітету з Таксономії вірусів ТТ вірус належить до складу роду *Anellovirus* родини *Circoviridae*. Дослідження ТТ вірусу показали, що цей агент має повсюдне поширення. За останніми даними ТТ вірус знайдений у домашніх тварин (свині, кішки, собаки, курки, вівці), приматів, екзотичних тварин (*Tupaia belangeri chinensis*, *Saguinus oedipus*, *Aotes trivirgatus*) (Kekarainen T. et al., 2001).

Великий відсоток людей, у яких ідентифікований ТТ вірус, становлять пацієнти, які перенесли переливання крові та гепатити різної етіології. Питання інфекційної безпеки в трансфузіології є одними з визначальних у сучасній медичній практиці. З огляду на це вивчення патогенезу, тканинного тропізму, молекулярних характеристик та епідеміологічних особливостей ТТ вірусу стало важливим завданням для більшості дослідників цирковірусів.

ТТ вірус (Transfusion transmitted virus або Torque teño virus) являє собою невеликий вірус розміром 30–50 нм, що містить односпі-ральну кільцеву ковалентнозакриту молекулу мінус ДНК. Плавуча щільність у хлористому цезії становить 1,31–1,34 г/см³. У геномі ТТ вірусу виявлено 3 основні відкриті рамки зчитування (ОРС). ОРС1 кодує поліпептид у 770 амінокислот, ОРС2 – 202 амінокислоти і ОРС3 – 105 амінокислот (Mushahwar I. et al., 1999; Hiranori M. et al., 1998; Irshad I., 2005).

Геном ТТ вірусу надзвичайно гетерогенний. За даними Н. Okamoto et al. (2002) і Yu-Wen Hu et al. (2005), ізоляти ТТ вірусу розподіляються у 5 генетичних групах. Найбільш генетично віддалені та істотно поширені ізоляти отримали назву SEN, PMV, TLMV, SANBAN. Відомо близько 40 генотипів ТТ вірусу, в структурі ДНК яких рівень генетичних дивергенцій досягав 30%.

Роль ТТ вірусу в розвитку хронічної криптогенної хвороби печінки, цирозів і карциноми печінки до кінця не з'ясована. Оскільки розмноження вірусу перебуває під контролем імунної системи, реплікація та посилення патогенності вірусу можливо при імунодефіцитних станах (ВІЛ) і взаємодії з іншими патогенами. З огляду на це клінічна картина хвороби може сильно варіювати.

Спочатку ТТ вірус розглядали як агент, що передається тільки через кров. Інші шляхи передачі поки невідомі, хоча й не виключаються. На це вказує виявлення ДНК ТТ вірусу в слині, змивах з глотки, грудному молоці, жовчі, фекаліях, спермі та вагінальному слизу. Відсоток ТТ інфікованих донорів крові як найвірогідніших джерел передачі інфекції коливається в дуже широких межах. Наприклад, в Англії він становить 1,9%, США – 9,1–12,8, Японії – 12, Таїланді – 36, Бразилії – 62%. Однак не відзначено позитивної кореляції між людьми, інфікованими ТТ вірусом, і людьми, які перенесли переливання крові (Segales J. et al., 2000, 2001).

Серед тварин ТТ і TLMV ізоляти були виявлені у кількох видів приматів. Доведено наявність людських варіантів ТТ вірусу у шимпанзе і макак. Виявлення ізолятів ТТ вірусу у домашніх і диких тварин підтверджує значне поширення інфекції. Вивчені ізоляти ТТ вірусу у тварин не є патогенними і цілком можуть виявитися новим видом або родом вірусу, хоча тісний зв'язок з ТТ вірусом людини не заперечується (Irshad I., 2005).

На сучасному етапі діагностичних досліджень оптимальним методом виявлення ТТ вірусу є ПЛР та її модифікації. Генетичне типкування великої кількості ізолятів ТТ вірусу здійснюється за допомогою RAPD методу і нуклеотидного секвенування геномів.

Найкращі результати в лікуванні ТТВ інфекції були отримані при застосуванні IFN-а. Вважається, що ефективність IFN-а терапії становить 45–55% [23].

Діагностика цирковірусної інфекції

Як зазначалося вище, ЦВІС є дуже поширеною у сучасному свиначстві і її збудник можна виявити як у здорових, так і хворих свиней [17, 132]. Це ускладнює діагностичну роботу через необхідність пошуку доказів зв'язку загострення епізоотичної ситуації і клінічного прояву захворювання свиней саме з ЦВІС-2. Особливо складно діагностувати ЦВІС через розмаїття її клінічних форм – системна інфекція, ентерит, пневмонія, шкірно-ниркова форма, аборти. Тому на сьогодні для етіологічної діагностики доказом ЦВІС є знаходження вірусного антигену та/або вірусного геному у характерних для ЦВІС ураженнях відповідних органів свині. Через це гістохімічний варіант імунопероксидазного методу та/або гібридизація *in situ* (ISH) зараз вважаються «золотим діагностичним стандартом» ЦВІС [17, 155], та все-таки для постановки остаточного діагнозу оптимальним є використання комплексного підходу. Він передбачає епізоотологічні дані, результати клінічних досліджень, вивчення патолого-анатомічних змін і застосування лабораторних методів діагностики (Harding J.C. et al., 1987; Larochelle R. et al., 1999; Le-Cann P. et al., 1998) [23].

Антитіла проти ЦВІС-2 виявляють непрямым методом флуоресціюючих антитіл (МФА), непрямым імунопероксидазним методом (ІПМ), твердофазовим методом імуоферментного аналізу (ELISA), методом серонейтралізації (РН). Серомоніторинг є найкращим методичним підходом для визначення часу виникнення ЦВІС у стаді та для проведення різноманітних епізоотологічних досліджень на популяційному рівні [17, 92, 156]. Більшість племінних стад у світовому свиначстві та більшість свиноматок у таких стадах на сьогодні є серопозитивними на ЦВІС-2 [17, 157]. Середній період напіврозпаду материнських антитіл у підсисних поросят – 19 діб. Пасивно набуті антитіла проти ЦВІС-2, що виявляються методом ELISA у 10–12-добових поросят зникають приблизно через 5 тижнів, якщо

їх титр був низьким; при середніх значеннях титру в ELISA анти-тіла зникають приблизно через 9 тижнів, а у поросят з високими титрами – приблизно через 12 тижнів [17, 158]. Для осередків ЦВІС у товарному свиñarстві характерним є існування незаражених груп тварин, наприклад, серед ремонтних кнурів і їх виявлення серологічними методами є дуже корисним для визначення способів викорінення інфекції [17, 159].

МФА є неавтоматизованим і досить суб'єктивним методом, хоч і часто вживаним для діагностики ЦВІС [15, 17]. МФА також засто-совується для виявлення антитіл проти непатогенного для свиней ЦВІС-1 – через те, що саме у ньому спостерігається низький рівень імунологічного перехрестя між ЦВІС-1 та ЦВІС-2 [17, 123].

ІПМ також не є автоматизованим і залежний від певних суб'єктивних чинників, але він широко використовується для діагностики ПВІС [17, 161]. Міжлабораторне випробування одних і тих самих 20 проб сироваток у різних лабораторіях Європи та Канади виявило широкі коливання титрів між лабораторіями [17, 162]. Вважається, що в ІПМ титри вищі, ніж у МФА, через те, що як фік-сатор для цього методу використовується параформальдегід, а не етанол чи спирт.

ELISA є чутливим, автоматизованим та об'єктивним методом виявлення та вимірювання антитіл проти ЦВІС-2 [17, 149]. Зараз у країнах ЄС у комерційній мережі продаються набори ELISA для виявлення та титрування як IgG (Ingezim PCV IgG), так і ранніх антитіл – IgM проти ЦВІС-2 (Ingezim PCV IgM). Цінність виявлення ранніх антитіл проти ЦВІС-2 полягає у тому, що вони утворюються в організмі вже на 21-шу добу після зараження, тоді як IgG утворюються між 21-ю та 50-ю добою п.з. Варіантом класичного методу ELISA є конкурентний метод (метод блокування) ELISA [17, 163]. Комерційний набір препаратів для постановки конкурентного ELISA-тесту (SERELISAPCV2Ab Mono Blocking) використовується у ЄС для виявлення копроантитіл проти ЦВІС-2 (Lopez P., Guilloso S., Deshaies E., et al., 2005, Proc Intern Conf Animal Circoviruses and Associated Disease, p. 91). У Російській Федерації відпрацьовано сучасні методичні та методологічні основи застосування ELISA при ЦВІС [17, 144]. В Україні для постановки ELISA-тесту використовуються тест-препарати виробництва фірми «Нарвак» (Москва, Росія) «Набор реагентов ЦВІС-

СЕРОТЕСТ для виявлення антител к циркувірусу свиней второго типа иммуноферментным методом».

Реакція серонейтралізації стала використовуватися для діагностики ЦВІС з моменту активізації розробок з вакцинопрофілактики цієї інфекції [17, 82]. Нейтралізуючі антитіла проти ЦВС-2 виявляються між 15- та 28-ю добою після зараження циркувірусом [17, 164], а у дослідях на поросятах-гнотобіонтах виявлено, що їх поява корелює з захистом від зараження ЦВІС, а також з кліренсом (тобто виведенням з організму) збудника цієї інфекції. Оскільки ЦВС-2 не зумовлює видимої цитопатичної дії у заражених культурах клітин, серонейтралізацію оцінюють за допомогою або МФА, або ППМ – по феномену реплікації не нейтралізованого вірусу. Вимога синхронізації розмноження клітин моношару перед постановкою тесту роблять РН доволі важким щодо виконання, а кінцеві титри нейтралізуючих антитіл визначаються не так певно, як з іншими збудниками.

На сьогодні для діагностики ЦВС-інфекції найчастіше застосовується метод виявлення ДНК вірусу за допомогою ПЛР [21, 67, 69, 70]. Перевагою ПЛР є швидкість, висока чутливість та специфічність. Для виявлення інфекційних агентів за допомогою ПЛР не має потреби у цілісності структур збудника і збереження його біологічної активності. За допомогою ПЛР ЦВС-2 виявлявся в широкому спектрі органів, що охоплює всі лімфатичні тканини, легені, печінку, селезінку, нирки і підшлункову залозу [21, 72, 73], а також у носових, трахеобронхіальних, фекальних змивах [21, 71].

У літературі описано кілька модифікацій ПЛР для діагностики ЦВІС [17, 165, 166]. Популярними різновидами класичної ПЛР є такі її модифікації:

1) багатоцільова ПЛР (Multiplex PCR) – за один цикл виявляється більше ніж одна таргетна (цільова) послідовність. У сучасній літературі по діагностиці ЦВІС описано такі варіанти багатоцільової ПЛР – метод одночасного виявлення ЦВС-1/ЦВС-2 [17, 157], метод одночасного виявлення ЦВС-2/ПВС, а також метод одночасного виявлення ЦВС-2/ПВС/вірусу хвороби Ауескі [17, 150];

2) гніздова ПЛР (nested PCR), яку розроблено для підвищення чутливості ПЛР за роботи з дуже малими концентраціями цільових послідовностей геному ЦВС-2 [17, 97];

3) багатоцільова-гніздова ПЛР (Multiplex-nested PCR) – була розроблена для одночасного виявлення в спермі мінімальних концен-трацій геномів ЦВС-1/ЦВС-2/ПВС [17, 167] та ЦВС-1/ЦВС-2 [17, 168];

4) кількісна ПЛР у реальному часі (real-time PCR) дає можливість вимірювати концентрацію копій геному ЦВС-2 у пробах сироватки крові та тканинах свині. У цьому методі ПЛР ланцюгова реакція та вимірювання об'єднано в один технологічний етап, що істотно скорочує тривалість діагностичного дослідження [17, 156];

5) ПЛР зі зворотною транскрипцією (Reverse transcription PCR) призначено для виявлення РНК збудника ЦВІС, яка наявна лише у реплікати якої у заражених свиней (свиней-вірусоносіїв) утворюються лише у період активного розмноження збудника [17, 169]. Чутливість цієї модифікації ПЛР теоретично може сягати однієї ко-пії геному ЦВС-2, що є занадто для діагностики такої хвороби, як ЦВІС, враховуючи масштаби поширення її збудника у свинарстві.

В Україні для постановки ПЛР використовуються праймери переважно власного виробництва, які конструюють згідно з відповідними вимогами міжнародних даних. Для екстракції ДНК використовується «Набір для екстракції ДНК», який виробляється у Російській Федерації (НПО «Нарвак»).

Взагалі, виявлення геному ЦВС-2 у ПЛР не може замінити клінічно-епізоотологічного обстеження свиней та мікроскопії тканин, оскільки ЦВС-2 є дуже поширеним і більшість здорових свиней є позитивними щодо прихованого носійства геному ЦВС-2. Винятком може бути лише використання ПЛР для виявлення нуклеїнових кислот ЦВС-2 у спермі [17, 82, 170]. Найпридатнішою для кількісного виявлення геному ЦВС-2 у сироватках крові та тканинах є rt-ПЛР. В ЄС її навіть рекомендують використовувати у виробничих умовах для передбачення динаміки інфекційного та епізоотичного процесів при ЦВІС [17, 171]. Річ у тім, що доведено залежність рівня ураження тканин, клінічного вияву ЦВІС та її перебігу від концентрації геному ЦВС-2 у тих чи інших тканинах. Так, 10^7 і більше копій геному ЦВС-2 у 1 мл сироватки відповідає несприятливому прогнозу щодо перебігу ЦВІС, клінічної маніфестації та рівня ураження тканин [17, 168]. Якщо методом rt-ПЛР виявляється копій геному ЦВС-2 менше ніж 10^6 , роблять висновок про зараження вірусом; концентрація копій на рівні 10^6 дає підстави під-

озрювати захворювання свині на ЦВІС, а концентрація 10^7 копій і більше корелює з гострою формою хвороби.

Гібридизація *in situ* (ISH) ґрунтується на використанні міченого ферментом чи ізотопом продукту ПЛР для виявлення відповідних ділянок геному ЦВС-2 у гістологічних зрізах органів і тканин свині [17, 142]. Описані модифікації ISH, в яких одночасно у тих самих зрізах виявляються одразу кілька вірусів: ЦВС-1/ЦВС-2, ЦВС-2/РРСС, а також ЦВС-2/ПВС [17, 95].

Для виявлення ЦВС-2 чи його антигену використовують гістохімічний варіант імунопероксидазного методу (ІПМ), МФА, вірусовиділення, а також антигенний варіант методу ELISA (antigen-capture ELISA). В ІПМ для виявлення антигену ЦВС-2 у зрізах, зафіксованих формаліном і вмонтованих у парафін тканин, використовують як моноклональні, так і поліклональні антитіла проти ЦВС-2 [17, 84]. Цей метод робить можливим визначення місць локалізації цирковірусного антигену у різних структурних елементах тканин і навіть у межах клітин. Встановлено, що його чутливість становить мінімум 10^8 копій ДНК цирковірусу або 500 ng вірусної ДНК [17, 172].

У порівняльних випробуваннях на тканинах від хворих свиней, що зберігалися 6 міс. у 10%-му нейтральному формаліні, як ІПМ, так і метод «ISH» виявили відповідно вірусні антиген та нуклеїнову кис-лоту у всіх пробах [17, 128]. Специфічність методу ISH була дещо вищою за ІПМ, особливо порівняно з його модифікацією, в якій використовувалися поліклональні антитіла [17, 173].

Вірусовиділення цирковірусу проводять у чутливих до нього клонах перещеплюваної лінії культури клітин РК-15. Ці клітини заражають досліджуваними рідинами або гомогенатами органів свиней, підозрюваних на ЦВІС [17, 163]. Оброблення моношару клітин глюкозаміном істотно збільшує рівень накопичення в ньому вірусу. Розмноження ЦВС-2, як правило, не супроводжується цитопатичним ефектом, тому його накопичення в клітинах можна виявити лише за допомогою МФА чи ІПМ. Вірусовиділення цирковірусу потребує багато зусиль та часу і далеко не завжди буває успішним, – особливо через аутоліз тканин під час транспортування. Проте воно є необхідним для визначення рівня вірусного забруднення сперми, а також для виготовлення аутогенних вакцин проти ЦВІС. Модифікацією вірусовиділення є кількісне вірусовиділення, в якій клітини РК-15 заражують 10-разовими розведен-

нями клінічних зразків (сироваткою, тканинними гомогенатами). Цей методичний підхід виявився корисним для розрізнення суб-клінічних форм ЦВІС від клінічних [17, 74]. Дослідженнями, проведеними у Росії з хвороб тварин «ВНИИВВиМ» (м. Покров) для культивування ЦВС-2 випробовували перещеплювані лінії клітин РК-15, CV-1, Vero, A4C2 [17, 159]. Культивування клітин CV-1, Vero та A4C2 проводили за температури 37°C, за використання 2–5% фе-тальної сироватки великої рогатої худоби та 2 мм глютаміну. Зараження цирковірусом та культивування клітин РК -15 проводили за методом Tisher I. у модифікації P.L. Lagan (2007). Наявність ЦВС-2 в інфікованих культурах клітин виявляли методом «гніздової» ПЛР та методом мікроскопії. Встановлено, що у моношарі культури клітин A4C2 вірус спричиняє деструктивні зміни, починаючи вже з другої доби після зараження (з'являється зернистість цитоплазми у перинуклеарному просторі). В культурах клітин CV-1 і Vero ізолювати ЦВС-2 не вдалося. В культурах A4C2 та РК-15 (клон А9) ДНК ЦВС-2 постійно виявлялася до 12-го пасажу (термін спостереження).

Певну діагностичну цінність має застосування флуоресціюючих антитіл для фарбування патогістологічних зрізів тканин від хворих свиней. Для цього методу використовуються кріологічні зрізи тканин, а також моно- чи поліклональні антитіла [17, 98]. Проте зауважується, що хоч цей метод і є швидким, але його результати не завжди корелюють з клінічно-морфологічними виявами ЦВІС і характер їхнього обліку є дещо суб'єктивним. Усе ж цей метод дає змогу чітко розрізнити цирковірус ЦВС-2 та ЦВС-1 між собою, оскільки і моно- і поліклональні антитіла проти них не дають перехресних реакцій [17, 175].

Антигенний варіант методу ELISA розроблено з метою виявлення цирковірусного антигену у тканинних гомогенатах і його результати співпадають з результатами ППМ та вірусовиділення з одночасним титруванням [17, 176]. Комерційна тест-система «SERELISA PCV2 Ag Capture», що заснована на засадах антигенного варіанта ELISA, у ЄС та в Америці використовується в основному для дослідження проб фекалій на ЦВС-2 (Lopez P., Guilloso S., Deshaies E., et al.: Proc Intern. Conf. Animal Circoviruses and Associated Disease, 2005, p. 91). У США цей тест не знайшов широкого впровадження через дещо низьку відтворюваність результатів.

Отже, діагностика ЦВІС має бути комплексною та ґрунтується на епізоотологічних, клінічних, патолого-анатомічних та лабораторних (серологічні, мікроскопічні, вірусологічні й молекулярно-генетичні) методах дослідження.

Особливої уваги потребує встановлення остаточного діагнозу ЦВІС у регіонах та країнах, де цю хворобу незареєстровано. Добре відомо, що згідно з вимогами МЕБ та національними законодавчими нормами у випадку виникнення нової хвороби діагностика має бути доказовою та обов'язково відповідати формату «тріади Коха» – не лише виділити та ідентифікувати збудника хвороби, а й довести, що саме він її спричиняє: тобто за допомогою виділеного збудника відтворити клінічну форму хвороби на чутливому виді тварин (метод біопроб).

У країнах ЄС, США та Канаді, а також у Російській Федерації відпрацьовувалися різні методи постановки біопроб на ЦВІС.

Упродовж майже десятиліття (1991–2000 рр.) відтворити типову форму ЦВІС на свинях різних порід та вирощених за різних умов утримання, різними методами зараження та різними ізолятами жодній групі науковців Світу не вдавалося [17, 162]. Експериментальне зараження свиней вірусом, адаптованим до культури клітин РК-15, не призводило до клінічної маніфестації в жодній зі спроб постановки біопроб з цирковірусами [17, 152]. Лише у 2000 р. вперше вдалося (на одному з чотирьох заражених поросят) отримати позитивний результат біопроб і, таким чином поставити остаточний діагноз на ЦВІС на основі «тріади Коха» у Великій Британії [17, 122]. Для постановки біопроб англійські фахівці використали безмолозивних поросят 2-тижневого віку: чотирьох з них інтраперитонеально заразили англійським епізоотичним ізолятом ЦВІС-2, виділеним у культурі клітин (група 1), трьох аналогічно заразили англійським епізоотичним ізолятом ПВС, також адаптованим до культури клітин (група 2), а сім поросят аналогічно заразили сумішшю зазначених ізолятів ЦВІС-2 та ПВС (група 3). Контролем слугували два підсвинки того самого віку, аналогічно інюльовані лізатом незараженої культури клітин. Всі підсвинки групи 3 приблизно на 10–12-ту добу п.з. стали млявими, а у 6 з них з'явилася жовтяниця. На 21–26 дні п.з. саме у цих шести поросят знайшли на розтині найбільш визначні патолого-анатомічні зміни – гепатомегалію, збільшення нирок; ураження лімфоїдних органів (масивна інфільтрація макрофагами,

утворення синцитіїв, тільця-включення у лімфоїдних тканинах). Гранулематозні ураження були в печінці, легенях, нирках, підшлунковій залозі, міокарді, кишківнику, яєчках, мозку та слинних залоз, у щитоподібній та наднирковій залозах. У патологічно змінених тканинах спостерігали накопичення цирковірусного антигену у великих кількостях. У групі 1 лише в одного підсвинка спостерігали зазначені вище клінічно-морфологічні ознаки, проте гістопатологічні зміни та накопичення антигенного матеріалу цирковірусу були такими самими, як і у поросят групи 3. Контроль підсвинків, як і поросята групи 2, увесь період біопроби залишалися клінічно нормальними і на розтині не мали макрозмін. Лише патогістологічно у поросят групи 2 виявлено ознаки легкого інтерстиціального нефриту.

Літературних даних про спроби постановки біопроби на ЦВІС з українськими ізолятами ЦВС-2 у доступних нам джерелах не виявлено [17].

8

Дифенційний діагноз

Як було сказано вище, ЦВС-інфіковані тварини можуть бути коінфіковані іншими патогенами, тому при постановці діагнозу необхідно виключати: РРСС, ПВІС, гемаглютинуючий вірус енцефаломіокардиту, грип свиней, проліферативну ентеропатію свиней, ензоотичну пневмонію, гемофільозний полісерозит, післявідлучний колібацильоз, криптоспоридіоз, післявідлучну анорексію, висна-ження та інші [19, 21, 23].

Дерматит і синдром нефропатії необхідно диференціювати від інших захворювань з ураженнями шкіри, таких як класична чума та африканська чума свиней, бешиха і актинобацильоз свиней [21–23, 74].

9

Особливості імунітету

Серед нерозв'язаних проблем у частині фундаментальних напрямів досліджень ЦВІС-2 найвагомішою є поглиблене вивчення ключових механізмів взаємодії вірусу з клітинами і макромолекулами організму хазяїна, що відіграють вирішальну роль у патогенезі й розвитку хвороби, формуванні специфічного противірусного захисту (Charreyre C., Beseme S., Brun A., et al., Proc Intern Conf Animal Circoviruses and Associated Disease, 2005, pp. 26–30).

Спочатку практиками, а потім науковцями було показано, що поросята від імунних свиноматок, а також імунізовані лікувально-профілактичною сироваткою є надійно захищеними не лише від загибелі та клінічних проявів ЦВІС, а й виявляють стійкість щодо зараження епізоотичним вірусом ЦВІС-2 [17, 166]. Водночас дані моніторингу засвідчили, що поряд з присутністю збудника, у вірус-позитивних тварин містяться і противірусні антитіла проти ЦВІС-2 [17, 178]. У Великій Британії, Канаді, Данії та у США ЦВІС поширювалася незалежно від рівня титрів антитіл, які виявлялися тест-системами ELISA: це було прямим доказом відсутності у виявлених антитіл захисних властивостей. Однак французькі вчені у 2003 р. довели існування імунітету проти цієї хвороби у свиней, щеплених протективним вірусним антигеном збудника [17, 117, 168]. У 2005–2006 рр. німецькі вчені переконливо довели існування нейтралізуючих антитіл при ЦВІС, титр яких корелював зі зменшенням реплікативної активності збудника та зникненням клінічних ознак інфекції за експериментальних умов [17, 104]. Пізніше це було підтверджено американськими дослідниками за польових умов. У 2005 р. було показано, що уражені PMWS тварини нездатні виробляти нейтралізуючі антитіла, тоді як їхня здатність до вироблення не нейтралізуючих антитіл залишається дуже розвинутою [17, 179]. У тому самому році групою англійських учених було доведено, що рівень захисту поросят від епізоотичного варіанта збудника пропорційно залежить

від титру материнських антитіл [17, 156]. Материнські АТ до ЦВС-2 зникають через 8–9 тижнів після народження, а сироваткові АТ зно-ву виявляються через 13–15 тижнів, що вказує на інфікування ЦВС приблизно у віці 11–13 тижнів [17, 180].

Важливою особливістю імунітету проти ЦВІС є різниця між спорідненістю (афінністю) та нейтралізуювальною активністю антитіл, направлених проти капсидного протеїну ЦВС-2 (його протективного антигену) – це встановлено при вивченні ізолятів збудника з різними генетичними та біологічними характеристиками [17, 181].

У дослідженнях 2006–2008 рр. жоден з дев'яти отриманих бельгійськими науковцями клонів моноклональних антитіл був нездатним нейтралізувати одразу всі сім взятих для вивчення штамів ЦВС-2. Це пояснює відсутність перехресного імунітету у тварин, заражених штамми різного походження, встановлену дослідженнями інших науковців у 2000–2004 рр. [17, 182].

Важливою особливістю імунітету свиней, уражених ЦВІС, є істотні перешкоди для вакцинопрофілактики у таких свиней інших інфекційних хвороб, у першу чергу – РПСС та ПВІС. Встановлено, що циркуляція збудника ЦВІС серед свинопоголів'я призводить не стільки до клінічної маніфестації хвороби та загибелі свиней, а скоріше спричиняє численні економічні збитки через негативний вплив на ключові імунокомпетентні органи свині і не дає можливість створювати надійний тривалий поствакцинальний імунітет після застосування будь-яких вакцин проти інфекційних хвороб свиней [17, 183]. Це пов'язано з імуносупресивними властивостями збудника. Водночас імуностимуляція поросят-вірусоносіїв ЦВС-2 будь-якими збудниками чи вакцинами [17, 184] через спотворення імунної відповіді проти ЦВІС може провокувати розвиток гострої форми ЦВІС чи іншої інфекції.

Зазначені особливості імунітету свиней при ЦВІС слугують теоретичною основою для розроблення та впровадження у ветеринарну практику серотерапії та серопротекції цієї інфекції. Практиками встановлено позитивний ефект від застосування сироватки свиней-реконвалесцентів поросяткам неблагополучних господарств перед та повторно через 3 тижні після відлучення – у дозі від 5 до 20 мл на одну тварину. Це дає можливість у кілька разів знизити ризик зараження поросят цирковірусом, а застосування сироватки на початковій стадії захворювання сприяє видужуванню до 50%

імунізованих тварин [17, 185, 186]. Значних успіхів у оздоровленні свинопоголів'я досягнуто за багаторазового введення поросят до і три тижні після відлучення сироватки крові здорових поросят (5–20 мл на голову). Однак при цьому необхідно дотримуватися таких умов [17, 178]:

- правила асептики під час взяття крові;
- використовувати кров поросят тільки з даної ферми, для запобігання заносу інфекції;
- перед взяттям крові проводити термометрію тіла донорів, не брати кров у тварин з підвищеною температурою;
- не брати кров від тварин, якщо на фермі реєструється активна форма РРСС;
- стимулювати апетит та життєві сили підсвинків відповідними ветеринарними препаратами (наприклад препаратом «Корно-піг», – у середину 2–3 рази на день по 3 мл).

У 2004 р. методом прямого зараження було показано, що щеплені капсидним антигеном свині, на відміну від нещеплених, набувають здатності протистояти зараженню тим самим штамом, з якого вироблено цей захисний препарат [17, 187]. Отже, зазначені дослідження відкрили шлях до розроблення засобів вакцинопрофілактики ЦВІС.

10

Лікування

Специфічних засобів лікування цирковірусних хвороб немає. Для пригнічення вторинних бактеріальних інфекцій можуть бути використані антибіотики з додаванням мультівітамінних препаратів [20].

11

Профілактика та заходи боротьби з цирковірусною інфекцією

Багаторічний світовий досвід застосування вакцинопрофілактики ЦВІС у товарному свинарстві показав, що вона має здійснюватися обов'язково у комплексі з іншими протиепізоотичними заходами [17,188]. З одного боку, ці заходи мають бути націлені на забезпечення нормального фізіологічного статусу і високої неспецифічної резистентності організму сприятливих тварин, а з другого – на знищення збудника в об'єктах ветеринарного нагляду.

У цьому сенсі найкращих результатів (перший принцип) вакцинопрофілактика ЦВІС на великих свинокомплексах промислового типу досягає при заміні трифазної системи вирощування свиней на двофазну, коли поросят після відлучення залишають у станках до наступного опоросу, а в 3–4-місячному віці переводять в інші приміщення на відгодівлю. У господарствах з невеликим обсягом поголів'я (до 3-х тис. гол.) ефект оздоровлення досягається за умов поєднання вакцинопрофілактики ЦВІС з туровими опоросами. При цьому розрив між турами одержання поросят має бути не менше трьох місяців [17, 107, 140].

Другим принципом вакцинопрофілактики ЦВІС, як це було встановлено під час її застосування у неблагополучних щодо ЦВІС-2 свинофермах, є заборона щеплення поросят 8–13-тижневого віку будь-якими вакцинами, оскільки у тварин-вірусоносіїв ЦВІС-2 пост-вакцинальна імуностимуляція може провокувати розвиток гострих форм хвороби.

Третім принципом вакцинопрофілактики ЦВІС, який тісно пов'язаний з попереднім, є важливість урахування за її проведення можливості змішаних інфекцій ЦВІС-2 передусім з вірусом РРСС та/або з парвовірусом, які відіграють надзвичайну роль у виникнен-

ні клінічних проявів ЦВІС. Отже, згідно з цим принципом слід підсилювати резистентність стада, оздоровлюваного від ЦВІС, проти вірусів РРСС та ПВІС, у першу чергу [17, 189].

Важливою умовою проведення профілактичних заходів проти ЦВІС також є запобігання факторам стресу, контроль за вторинними інфекціями, оптимізація мікроклімату, годівлі та забезпечення напування.

Як показує сучасний досвід американських, нідерландських та німецьких ветеринарів, дуже важливою передумовою успішної вакцинопрофілактики- ЦВІС, є її застосування у комплексі зі спеціальними заходами та засобами дезінфекції [17, 117, 190]. Оскільки ві-рус надзвичайно стійкий до звичайних деззасобів, деконтомінація ферм без додавання до дезінфікувальних речовин детергентів є не ефективною. Дезінфікувальні засоби як діюча речовина мають міс-тити глутаровий альдегід, амонійні сполуки, органічні кислоти, або сильнодіючі органічні сполуки [17].

У 2004 р. американська група дослідників на чолі з доктором Х.Х. Meng зареєструвала для фірми Fort Dodge (США) першу вакцину проти ЦВІС – інактивовану рекомбіновану проти цирковірусу свиней на основі химерного цирковірусу 1-го типу (ЦВС-1+ЦВС-2), яка дістала назву «SUVAXYN PCV2». Цей препарат було зареєстровано у США, Японії, Південній Африці, Таїланді, а також, за результатами реєстраційних випробувань – в Україні. Показаннями до застосування вакцини є активна імунізація поросят з метою попередження віремії ЦВС-2 та запобігання деградації лімфоїдної тканини і прогресуючої втрати ваги, що пов'язані з інфікуванням свиней цирковірусом 2-го типу.

Відтоді різними зарубіжними виробниками розроблено та випро-бувано понад 11 різних комерційних вакцин проти ЦВІС [17, 104], використання яких показали, що вони спричиняють утворення спе-цифічних антитіл та можуть бути успішно використані для імуніза-ції свиней.

11.1. Вакцини

Для специфічної профілактики ЦВС у багатьох країнах використовують інактивовані й рекомбінантні субодиничні вакцини із ЦВС-2 або капсидного білка цього вірусу [8, 13].

Перша комерційна інактивована вакцина була створена в 2004 р. у Франції. На ринку ветеринарних препаратів представлено кілька видів вакцин, більша частина яких має у складі рекомбінантний кап-сидний білок ЦВС-2 [8, 193, 194].

Усі без винятку комерційні вакцини проти ЦВС засновані на ЦВС-2а або капсидних білках цього вірусу і володіють високою ефективністю. Встановлений перехресний захист з іншими генотипами вірусу. Однак зафіксовані випадки, коли у вакцинованих свиней розвивається СМВП. Молекулярно-генетичний аналіз виділеного від таких свиней вірусу показав належність цього ізоляту до ЦВС-2b. Цей факт свідчить, по-перше, про недостатню вивченість механізму захисту від розвитку захворювання, по-друге, про необхідність розробки більш ефективних засобів імунoproфілактики ЦВС, зокрема, на основі ЦВС-2b [8, 194–197].

Живі атенуйовані вакцини. Живі вірусні вакцини – це, як правило, штучно ослаблені за допомогою культивування штами або природні авірулентні імуногенні штами вірусу, які, розмножуючись у природносприйнятливому організмі, не виявляють вірулентності й втратили здатність до горизонтальної передачі. Властивість живих атенуйованих вакцин це індукувати як клітинну, так і гуморальну імунну відповідь, що стало підставою для створення такої вакцини проти ЦВІС. Проведення 120 серійних пасажів польового ізоляту ЦВС-2b культурі клітин РК-15 призвело до двох точкових мутацій в гені капсидного білка, які виразилися в здатності добре накопичуватися *in vitro*, а також в атенуйованих властивостях *in vivo*. Введення такої вакцини у ветеринарну практику обмежена загальною для атенуйованих вакцин властивістю – можливістю реверсії до дикого типу вірусу. Проблема вирішується використанням химерних вакцин, вірус яких складається з геному ЦВС-1. У складі останньої ділянки ДНК, що кодує головний імуноген вірусу – капсидний білок, замінений на аналогічний з ЦВС-2. Така вакцина на основі генотипу 2b виявилася ефективною в експериментальних умовах при зараженні імунізованих поросят ЦВС-2а і ЦВС-2b, або одночасному інфікуванні їх трьома вірусами респіраторної групи: ЦВС-2b, вірусом РРСС, а також парвовірусом свиней [8, 195, 198, 199].

ДНК-вакцини. Технологія ДНК-вакцин заснована на здатності плазмідної ДНК з вбудованим геном протективного білка розмножуватися в клітинах кишкової палички і накопичуватися у ве-

ликих кількостях. Плазмідну ДНК очищують і вводять тваринам внутрішньом'язово або підшкірно. Вона поглинається клітинами тварин у невеликій кількості, транспортується в ядро, де за допомогою РНК-полімераз II утворюється матрична РНК, яка в цитоплазмі забезпечує синтез протективного білка. Останній індукує гуморальну і клітинну імунну відповідь. В організмі тварин плазмідна ДНК не розмножується і не вбудовується в хромосоми. Внутрішньом'язове введення химерного варіанта (ЦВС-1, містить ORF-2 ЦВС-2) плазмідної ДНК дало змогу добитися вираженого захисного ефекту на природносприйнятливих тварин в умовах експерименту [8, 198, 200, 201].

Векторні вакцини. Такі вакцини засновані на виділенні гена протективного білка і введення його в геном безпечних векторів – атенуйованих штамів вірусів та бактерій. Рекombінантні віруси або бактерії розмножуються в організмі тварин і забезпечують продукцію протективного білка, який індукує гуморальну й клітинну імунну відповідь. На сьогодні було запропоновано кілька векторів, що експресують капсидний білок ЦВС-2: на основі рекombінантного штаму вірусу хвороби Ауескі, аденовірусу, а також атенуйованого штаму бактерії *Bordetella bronchiseptica*. Всі ці препарати індукували у поросят утворення НА, а також сприяли зниженню віремії і підвищенню виробничих показників, порівняно з невакцинованими тваринами. Основним недоліком цих вакцин є формування імунітету до вектора, який може вплинути на їх ефективність [8, 202].

Марковані вакцини. Одна з проблем, що стоїть перед розробниками вакцин проти ряду захворювань, це неможливість серологічно диференціювати інфікованих тварин від вакцинованих. Причина – за виробництва як діагностичних наборів, так і вакцин використовується один і той самий білок. Відповідно, наявність до нього антитіл може свідчити як про віремію, так і про імунну відповідь після вакцинації. У разі ЦВС-2 частково цю проблему розв'язує застосування ІФА-наборів, призначених для визначення антитіл класів IgG/IgM. Однак ефективніший засіб – це створення маркованих вакцин проти даного захворювання. Одне з таких досліджень завершилося розробкою тест-системи ІФА, що дає змогу визначати наявність антитіл у вакцинованих свиней до «бакуломаркерів» – обов'язкового компонента вакцини, антиген яких отримано за допомогою бакуловірусної системи експресії генів. Питання про те, чи є

цей набір універсальним для всіх вакцин, отриманих за допомогою бакуловірусів, залишається відкритим [8, 203, 204].

У разі використання живих вакцин «маркування» можна домогтися за рахунок введення до складу геному вірусу невеликої послідовності амінокислот («ярлика»), що, з одного боку, не впливає на біологічні властивості вірусу, з іншого, дає змогу визначати відмінності між вакцинованими та інфікованими тваринами [8, 203].

Рекомбінантні субодиничні вакцини. Цей тип вакцин заснований на виділенні гена проективного білка і включенні його в бакуловірусний геном – геном вірусу ядерного полієдрома. Рекомбінантний бакуловірус розмножується в культурі клітин комах і забезпечує продукцію протективного білка, який використовують для виготовлення вакцини.

Усі комерційні субодиничні вакцини проти ЦВІС засновані на рекомбінантному капсидному білку, отриманому в бакуловірусній системі експресії генів. Однак, робляться спроби використання інших експресійних систем. Зокрема, в експерименті на мишах показано здатність індукувати утворення специфічних антитіл при оральному введенні капсидного білка, експресуватися в дріжджах. Крім того, імунодомінантний епітоп капсидного білка ЦВІС-2, представлений на поверхні бактеріофага лямбда, також сприяв виробленню НА у свиней. Субстратом для отримання антигену в бакуловірусній системі експресії генів може слугувати не лише чутлива культура клітин, а й личинки комах – капустяної совки (*Trichoplusia ni*) [8, 205–207].

11.2. Механізми захисту та критерії ефективності вакцин проти ЦВІС

Численними дослідженнями встановлено, що вміст ДНК ЦВІС-2 у сироватці крові тварин з СМВІП вище, ніж у сироватці субклінічно інфікованих тварин. Виявлення за допомогою ПЛР в реальному часі ДНК ЦВІС-2 у сироватці крові тварин у кількості 10^7 копій/мл та більше свідчить про ЦВІС, $<10^6$ копій/мл – про субклінічну форму інфекції, 10^6 – 10^7 копій/мл – про підозру на наявність ЦВІС. Цей самий критерій використовують при визначенні ефективності вакцин як у природних умовах, так і в експерименті. Незалежно від конкретного препарату вакцинація знижує відсоток тварин з віремією

на 42–86,1% серед експериментально інфікованих ЦВС-2. Незалежно від використання того чи іншого вірусу (ЦВС-2 різних генотипів, вірус репродуктивно-респіраторного синдрому, парвовірус свиней та ін.) для експериментального зараження, у крові вакцинованих тварин не виявляється понад 10⁷/мл копій ДНК ЦВС-2.

Отже, здатність вакцин проти ЦВІС зменшувати відсоток тварин з віремією, а також знижувати вірусне навантаження порівняно з невакцинованими тваринами є переконливим доказом ефективності вакцин [8, 208, 209].

Джерелом збудника інфекції слугують хворі та латентно інфіковані свині різних вікових груп, які виділяють вірус з фекаліями, сечею, слиною, молоком, носовими й очними секретами, при цьому саме носові секрети є найефективнішим шляхом передачі. Вакцинація сприяє зменшенню виділення вірусу з носовими виділеннями та фекаліями. Можливість передачі ЦВС-2 зі спермою інфікованих кнурів безпосередньо залежить від концентрації вірусу в спермі. Ряд даних свідчить про те, що вакцинація кнурів проти ЦВС-2, не впливаючи на якість сперми, зменшує як відсоток тварин з віремією загалом, так і концентрацію вірусу в спермі. Інший спосіб вертикальної передачі вірусу – це внутрішньоутробне інфікування. На-явні нині вакцини не здатні повністю блокувати зазначений шлях передачі [8, 194, 210].

Повна відсутність, а також високий рівень НА корелює з розвитком СМВІП. Навпаки, зниження віремії часто супроводжується високим рівнем антитіл. Отже, наявність віруснейтралізуючих антитіл є одним з механізмів обмеження реплікації вірусу в організмі тварини. Кореляція між рівнями антитіл класу G і НА поки не встановлена. У ряді робіт доведено здатність комерційних вакцин індукувати вироблення НА, причому рівень їх при використанні як субодиничних, так і химерних вакцин був приблизно однаковим. При визначенні оптимальної схеми застосування вакцин було встановлено, що дворазова імунізація індукує вищий рівень НА, ніж одноразова [8, 208, 211].

Деякі виробники рекомендують застосовувати вакцини не лише для поросят, а й для свиноматок. Мета такого підходу – створити пасивний імунітет у новонароджених поросят до інфікування ЦВС-2, оскільки саме в цьому періоді тварини найчутливіші до вірусу. Слід зазначити, що цей ефект пов'язаний не стільки з наявністю НА,

скільки з їх кількістю: високі титри практично повністю гарантують стійкість тварин до інфікування, тоді як низькі практично не впливають на ймовірність інфікування. Вакцинація вагітних свиноматок може значно зменшити кількість вірусу в молозиві. Захисний ефект досягається завдяки передачі поросятam IgG з молозивом. На ефективність такого підходу впливає кількість молозива, яке отримує поросля в перші 24–48 год життя, а також концентрація IgG в ньому. Це і визначає тривалість наявності колостральних антитіл у крові порослят у межах від 2 до 15 тижнів [8, 212].

Починаючи з 2004 р. стали публікуватися результати досліджень, в яких була показана суттєва роль клітинного імунітету при цьому захворюванні: у вакцинованих тварин можна визначати ЦВС-2-специфічні клітини, що секретують інтерферон гамма – основний імунорегуляторний цитокін. У молозиві вакцинованих свиноматок також вдалося виявити ЦВС-2-специфічні клітини, була доведена можливість їх передачі приплоду, проте захисного ефекту, пов'язаного з наявністю таких клітин, виявити не вдалося [8, 94, 208].

Один з методів діагностики СМВП – виявлення в лімфоїдній тканині характерних змін та антигену або ДНК ЦВС-2. Вакцинація знижує кількість таких патологічних змін, крім цього, зменшується і вірусне навантаження у лімфоїдних тканинах порівняно з невакцинованими тваринами. Важливо пам'ятати, що зміни в лімфоїдній тканині найчастіше розвиваються за поєднаної інфекції, а не при зараженні лише ЦВС-2 [8, 213].

Основні виробничі параметри, за якими судять про ефективність вакцин проти ЦВІС, – збереження і середньодобовий приріст маси як на дорощуванні, так і на відгодівлі. Залежно від використовуваної вакцини, а також інших факторів (умов утримання та годування, наявність супутніх захворювань та ін.) підвищення середньодобового приросту маси порослят коливається у межах 16–69 г у період від 3 до 19–26 тижнів. Одноразова вакцинація також знижує відхід порослят на 1,0–9,3% [8, 194, 214–216].

Відомо, що велика частина порослят серопозитивні відносно ЦВС-2. Ряд дослідників висунули припущення, що це може бути перешкодою для формування імунітету під час вакцинації. Було показано, що у порослят з високим титром антитіл ($>10 \log_2$), визначеним у реакції імунопероксидазного фарбування, розвиток гуморальної

імунної відповіді після вакцинації був слабким, тоді як у поросят з низьким титром ($<8 \log_2$) такого ефекту не відзначено. Необхідно пам'ятати, що ці дослідження ґрунтувалися на визначенні анти ЦВС-2 антитіл, тоді як захисні властивості мають саме НА. Інші дослідження показали, що наявність материнських антитіл не впливає на ефективність утворення ЦВС-2-специфічних-інтерферон-гамма-секретуючих клітин, а також на зниження вірусного навантаження у спермі кнурів, імунізованих проти ЦВІС [8, 211, 217–219].

Пік імунної відповіді і, як наслідок, максимальна стійкість до зараження ЦВС-2 відзначені у поросят через 12–13 тижнів після імунізації, тобто в 15–16-тижневому віці. Отже, якщо інфікування вірусом відбувається у ранньому віці, то ефективнішою може бути вакцинація свиноматок. У випадках, коли інфікування відбувається на пізніших стадіях, обґрунтовано видається вакцинація саме поросят [8, 220, 221].

11.3. Контроль імуногенності вакцини

Найбільшими проблемами у створенні вакцин проти ЦВІС є антигенна та генетична відповідність («спорідненість») вакцинного штаму епізоотичним варіантам збудника, недостатньо активне накопичення вакцинної сировини у культурах клітин, стійкість збудника до традиційних вірусних інактиваторів, а також відпрацювання методу контролювання їх імуногенності (Vaccine Potency) [17, 179].

Контроль за імуногенністю – найвідповідальніша процедура у створенні та виробництві будь-якої вакцини, оскільки лише імуногенні препарати, тобто такі, що захищають щеплену тварину від загибелі, захворювання та вірусоносійства, або хоча б від загибелі та захворювання, вважаються придатними до впровадження у ветеринарну практику. Проблема ж контролювання імуногенності вакцин проти ЦВІС є неможливість відтворити доказові ознаки клінічного вияву цієї хвороби на інтактних свинях класичним способом, тобто зараженням сприйнятливих свиней одним лише ЦВС-2.

Для розв'язання проблеми контролювання імуногенності вакцини Ingelvac «CIRCOFLEX», що виробляється з головного капсидного протеїну через експресію його гена у клітинах комарів Бакуловірусною

Таблиця 1. Характеристика найвживаніших комерційних вакцин проти ЦВІС

Продукт/виробник	Цільова група	Кількість вакцинацій, доза	Час проведення вакцинації
«CIRCOVAC» / Фірма MERIAL	Свиноматки	2 рази (2+2мл)	3–4 тижні до опоросу
Ingelvac «CIRCOFLEX» / Фірма Boehringer Ingelheim	Поросята	1 раз (1 мл)	1 раз із 14-добового віку
«PORCILIS PCV2» / Фірма Intervet	Поросята	1 раз (2 мл)	1 раз із 3-добового віку
SUVAXYN PCV2 One Dose® / Фірма Fort Dodge	Поросята	1 раз (2 мл)	1 раз із 30-добового віку

Експресувальною Системою (Baculovirus Expression System, BEVS), фірма Boehringer Ingelheim розробила тест «відносної імуногенності» (relative potency, RP). В основі процедури RP лежить використання методу ELISA з метою порівняння поствакцинальних титрів антитіл у свиней, імунізованих досліджуваною та референтною вакцинами [17, 121].

Останню підбирають з числа вакцинних препаратів, що мали оптимальні показники у біопробі на імунізованих поросятах-гнотобіотах (EFFICACY ASSESSMENT). Для забезпечення виконання вимог Директиви ЄС 2001/82/ЄС та параграфа 5.2.7 Європейської Фармакопеї референтна вакцина повинна мати такі показники ефективності у біопробі:

- 1) мінімальну імунізувальну дозу (minimum immunising dose, MID), яка гарантує необхідний рівень дієвості (efficacy);
- 2) початок становлення імунітету (onset of Immunity, OOI) з 14-ї доби після щеплення;
- 3) тривалість імунітету (duration of Immunity, DOI) впродовж 4-х міс. після щеплення.

При цьому за задовільний, у досьє вакцини Ingelvac «CIRCO-FLEX», приймають рівень дієвості (захисту), що дає можливість:

- 1) зменшити смертність та клінічну маніфестацію ЦВІС у щеплених поросят;
- 2) виявити захисну дію щодо ЦВІС за показниками розвитку поросят (захистає від падіння середньодобового приросту, строкатості цього показника у піддослідній групі, збільшення терміну відгодівлі до забою);

3) зменшувати інтенсивність виділення збудника ЦВІС з носовими екскретатами та рівень репродукції вірусу в організмі щеплених поросят;

4) забезпечувати появу імунітету щонайменше вже через 2 тижні після щеплення та його тривалість упродовж не менше 17 тижнів).

Проведення біопробу у цих напрямках забезпечується використанням таких аналітичних методів:

- патогістологічного;
- імуногістохімічного (ІНС);
- вірусовиділення з цільових органів у культурі клітин з пара-лельною постановкою якісної та кількісної ПЛР;
- МФА та ІПМ для визначення титру нейтралізуювальних антитіл;

Досліджувана вакцина проти ЦВІС за вимогами досьє вакцини Ingelvac «CIRCOFLEX» випробовується на трьох рівнях показника RP (Relative potencies) – $RP=0.05$, $RP=0.46$ та $RP=1$. За даними досьє випробувана серія вакцини за одноразового щеплення та зараження «вірусом-пробійником» через 32 доби після щеплення запобігла розвитку «лімфоїдного спустошення» лімфовузлів, запаленню лімфовузлів та їх позитивному фарбуванню у гістохімічній реакції, а також сприяла зменшенню порівняно з нещепленими поросятами обсягів екскреції вірусу з носовими виділеннями (*первинні параметри ефективності*). Цікаво, що *вторинні параметри ефективності* за результатами випробувань не залежали від дозування: у піддослідних групах 1 ($RP=0.05$) і 3 ($RP=1.00$) середньодобовий приріст був на однаковому рівні і значно перевищував цей показник у контрольній групі. Найкращий сумарний результат біопробу було отримано за використання вакцини у найвищій дозі ($RP = 1$).

Як можна бачити з наведеного вище, процедура визначення імуногенності вакцин проти ЦВІС, що прийнята у ЄС та країнах Північної Америки, є дуже складною, затратною та заснована на матеріальній базі, якої немає в Україні.

Китайські вчені розробили модель випробування імуногенності вакцин проти ЦВІС на основі біопробу на лінійних мишах BALB/c [17, 107]. У зазначеній моделі від щеплених вакциною мишей відбирають селезінки, готують з них перещеплювану культуру спленоцитів, у якій за допомогою тесту стимуляції з використанням 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide та головного капсидного протеїну ЦВІС-2 (MTT test) визначають кількість

сплелоцитів, простимульованих через 8 тижнів після щеплення випробовуваною вакциною [17, 192]. Учені тайванського університету спростили цю процедуру за рахунок використання периферійних лейкоцитів крові щеплених свиней та їх стимуляції конканаваліном А [17, 191].

Іспанські дослідники оцінюють ефективність вакцин проти ЦВІС за виробничих (польових) умов, вивчаючи показники інтенсивності відгодівлі, ветеринарно-експертні показники туш відщеплених свиней, а також на підставі динаміки відходу у щеплених вакциною стадах свиней [17, 88].

Компанія Luoyang Pu-like Bio-engineering Co., Ltd. зареєструвала міжнародну заявку на винахід способу оцінки імуногенності вакцини (potency test method) з використанням нелінійних білих мишей [17, 121]. Цей метод передбачає імунізацію білих мишей випробовуваною інактивованою вакциною, визначенням титру віруспецифічних (проти ЦВІС-2) антитіл за запатентованою процедурою, що дає змогу оцінювати цирковірусні вакцини без залучення біопроб на свинях, заощаджує трудові затрати, кошти та час без зниження достовірності та відтворюваності результатів випробувань. Тест призначено для оцінки якості розроблюваних та прогнозування проти-епізоотичної ефективності комерційних інактивованих цирковірусних вакцин [17].

11.4. Оцінка ефективності вакцинації

Важливою стратегією боротьби з цирковірусною інфекцією є розробка ефективних вакцин проти ЦВІС-2. Щороку економічні втрати у свинарській галузі зростають через високу смертність тварин і великі витрати на охорону їхнього здоров'я. Так, оцінені збитки через цирковірусну інфекцію свиней в Євросоюзі становлять близько 600 млн євро/рік. У США ЦВІС-2 є найпоширенішою хворобою свиней після РРСС. Незважаючи на всі зусилля свинарів, їм не вдається відновити виробничі показники до того рівня, що передував спалаху захворювання [3].

Коли з'явилися перші вакцини проти ЦВІС-2, були гострі дискусії, кого краще вакцинувати: свиноматок чи поросят? Обидві точки зору мали своїх прихильників, а в умовах ризику виникнення небезпечного для здоров'я свиней захворювання та втрат виробників,

все що допомагало, приймалося із вдячністю. Вакцини для поросят швидко заповнили ринок, і зараз щеплення від лучників – рутинна справа в інфікованих стадах.

У 2012 р. Fraile та ін. провели дослідження у стаді, інфікованому ЦВС-2 у субклінічній формі та з наявністю фоновієї інфекції вірусом РРСС. У досліджуваному господарстві раніше не застосовували вакцини проти ЦВС-2 для свиноматок. Піддослідних тварин поділили на дві групи: одну групу свиноматок вакцинували проти ЦВС-2 перед осіменінням (ВС), іншу не вакцинували (НВС). Поросят від свиноматок із цих груп (загалом 476) також вакцинували (ВП) або ні (НВП) у віці 4-х тижнів, а потім фіксували їх живу масу впродовж усього дослідження до 25-тижневого віку. Вірусний статус ЦВС-2 у сироватці крові також контролювали у субпопуляції із 75 тварин від кожної з 4 груп.

Порівняння приростів маси, виражене у відсотках, представлено на рис. 4. Група невакцинованих свиноматок (НВС) і невакцинованих поросят (НВП) використана як негативний контроль (100%).

Були деякі відмінності в приростах між тваринами різних груп, проте обидві групи вакцинованих поросят продемонстрували істотно вищі темпи росту під час основної фази віремії ЦВС-2

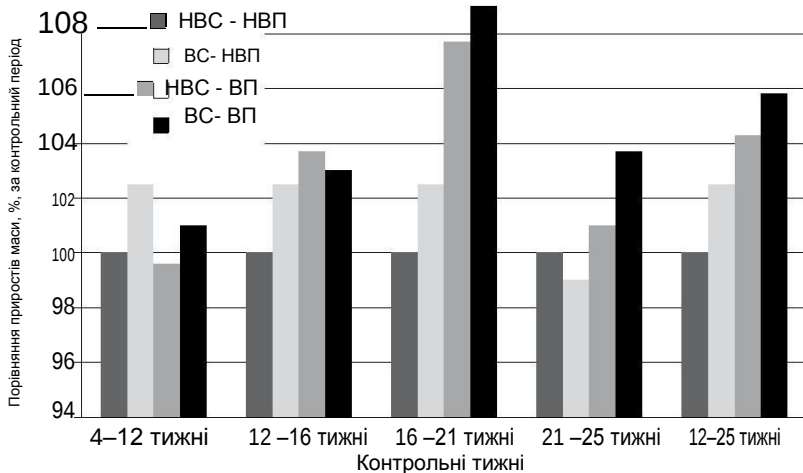


Рис. 4. Прирости маси поросят за різних схем вакцинопрофілактики, %

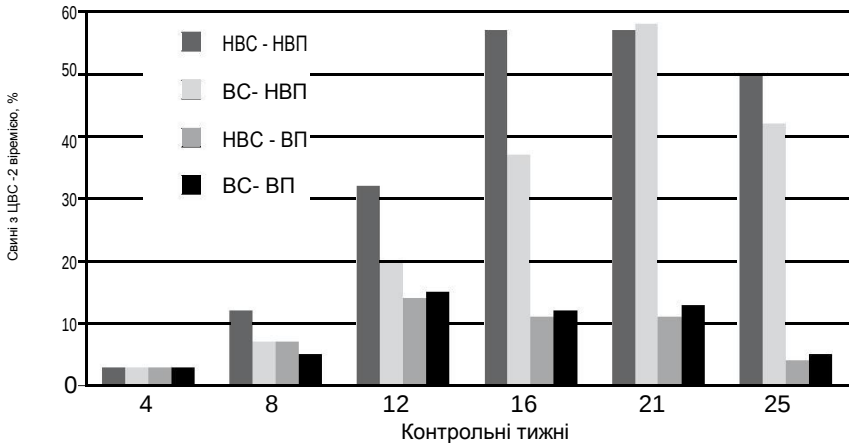


Рис. 5. Прирости маси під час ЦВС-2 віремії, %

(рис. 5) між 12-м та 25-м тижнями і особливо між 16-м та 21-м тижнями.

У групі, де вакцинували тільки свиноматок (ВС-НВП), вдалося трохи затримати віремію до 16-го тижня, але не на 21-му. Група з вакцинованими поросятами особливо добре справлялася з віремією і не було ніякої статистичної різниці між обома групами (НВС-ВП та ВС-ВП), хоча в обох результати були кращими, ніж у групі невакцинованих свиноматок (НВС-НВП).

Загалом, з огляду приросту, група ВС-ВП показала кращі результати – 4,1 кг приросту живої маси на свиню, що статистично краще, ніж інші досліджувані групи. Ветеринари у Великій Британії також виступають за вакцинацію свиноматок перед осіменінням, щоб під час поросності захистити їх від ЦВС-2, який може мати шкідливий вплив на репродуктивну функцію.

Згідно з вище вказаними результатами можна зробити висновок, що поєднання цих двох підходів може поліпшити захист свиноматок та їх потомства від цирковірусної інфекції свиней [4].

11.5. Порівняльна ефективність двох комерційних вакцин проти ЦВС-2

Останніми роками в багатьох країнах з промисловим свинарством вакцинація проти цирковірусної інфекції свиней (ЦВІС) стала технологічним (рутинним) заходом профілактики цього економічно важливого захворювання. Рівень вакцинації національного поголів'я проти ЦВС-2 у США становить понад 95%, у Канаді та Мексиці – понад 80%, Великій Британії та Південній Кореї – понад 70%, Японії і Німеччині – понад 65% (Siebel K., 2010). Імунізація проти ЦВІС широко практикується і в Росії. На вітчизняному ринку нині доступні кілька комерційних вакцин проти ЦВС-2.

Дослідження проводили в умовах промислового свинарського комплексу, що знаходився в Північно-Західному регіоні Росії. Господарство являє собою типовий частково реконструйований свинокомплекс на 54 тис. гол. (з них 2,5 тис. свиноматок). Історично основний відхід поросят груп дорощування і відгодівлі був асоційований з комплексом респіраторних хвороб свиней (КРПС). У пробах патматеріалу від хворих поросят груп дорощування і відгодівлі виявляли вірус РРСС європейського генотипу, ЦВС-2, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. Hyorhinis*, *Pasteurella multocida* (типи А і D), *Haemophilus parasuis* і стрептококи.

З метою профілактики респіраторних хвороб свиней у господарстві тривалий час використовувалася інактивована тканинна вакцина, яка була виготовлена з внутрішніх органів хворих поросят. Цей препарат давав досить варіабельний ефект, з огляду на що він був замінений на комерційну вакцину проти ЦВС-2. Протягом року до проведення порівняльного дослідження всі поросята в 3-тижневому віці одноразово вакцинувалися проти ЦВС-2 вакциною Порціліс РСВ (Інтервет). Після початку вакцинації проти ЦВС-2 стан здоров'я поросят у стаді значно поліпшився, скоротився рівень загинів на дорощуванні та відгодівлі, але клінічні ознаки КРПС періодично продовжували реєструватися з середини до кінця відгодівлі.

Для порівняльного дослідження доступних на ринку комерційних вакцин проти ЦВС-2 дослідні групи вакцинувалися однією дозою (1 мл) вакциною Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® (Берінгер Інгельхай, Ні-

меччина) у 21-й день життя, контрольні групи продовжували вакцинувати однією дозою (2 мл) Порціліс PCV у тому самому віці. Поросята дослідних і контрольних груп утримувалися в однакових умовах у різних секторах, але поруч один з одним в одному приміщенні.

Результати, отримані за час проведення дослідів, представлені в *табл. 2*.

Як видно з *табл. 2*, істотної різниці між вакцинами Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® і Порціліс PCV за результатами за період дорощування не спостерігалось.

Однак на відгодівлі вакциновані Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® поросята демонстрували кращі показники. При клінічному огляді серед вакцинованих Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® поросят також реєстрували меншу кількість тварин з ознаками респіраторних порушень, ніж серед вакцинованих Порціліс PCV.

Імунізація поросят вакциною Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® дала можливість збільшити загальну збереженість за період дорощуван-

Таблиця 2. Показники виробничих критеріїв за вирощування свиней при вакцинації проти ЦВС-2

Показники	Дорощування		Відгодівля	
	Інгельвак ЦиркоФЛЕКС	Порціліс PCV	Інгельвак ЦиркоФЛЕКС	Порціліс PCV
Кількість секторів	2	3	2	3
Кількість поросят	2800	4158	2455	35,93
Смертність, %	7,14	6,20	4,28	8,32
Вибраковка, %	0	0	7,94	8,71
Переведено пiгбалій, %	5,18	6,25	0	0
Збереженість, %	92,86	93,80	87,78	82,97
Середньодобовий приріст, г/день	337,0±26,87	322,0±60,31	625,50±10,61	577,33±13,87
Середня маса 1 гол. при поставці, кг	5,65±0,64	6,27±0,47	19,70±1,70	21,70±3,34
Середня маса 1 гол. при здачі, кг	20,00±1,41	22,17±3,55	99,75±5,16	94,93±0,99
Загальний приріст 1 гол. за період, кг	14,35±2,05	15,90±3,08	80,05±3,46	73,23±3,36
Термін утримання, дні	47,50±3,54	45,33±3,06	137,50±3,54	129,67±5,69
Середнє значення =M±S				

ня і відгодівлі на 3,87% порівняно з вакцинованими Порціліс PCV (80,64% проти 76,77%).

За перерахунку на однаковий загальний строк утримання поросят на дорощуванні та відгодівлі впродовж 175 днів середній загальний приріст маси вакцинованих Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® поросят становив на 0,17 кг більше порівняно зі свинями, вакцинованими Порціліс PCV (89,30 кг проти 89,13 кг).

Імунізація вакциною Інгельвак циркоФЛЕКС® дала змогу отримати додатковий чистий прибуток на кожне вакциноване поросся 334,73 руб. порівняно зі свинями, вакцинованими Порціліс PCV.

Отримані в нашому дослідженні дані схожі з результатами незалежного порівняльного дослідження в Канаді (Cardinal F., 2008), що продемонстрував вищу ефективність Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® порівняно з вакциною Циркумвент PCV (Интервет). Смертність на відгодівлі для першої вакцини становила 3,1% проти 7,0% після одноразового і 3,9% після дворазового введення Циркумвент PCV, в невакцинованій контрольній групі рівень загибелі становив 10,4%.

Проведені дослідження показали, що вакцинація проти ЦВС-2 є важливою ланкою в системі контролю і профілактики комплексу респіраторних хвороб свиней. Під час порівняння ефективності одноразового введення двох комерційних вакцин найкращі результати отримані за використання вакцини Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® (Берін-гер Інгельхайм) [5].

Щодо ефективності вакцини Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® було проведено ще одне дослідження у ветеринарному коледжі при університеті Конкук, Сеул.

Дослід було проведено на трьох фермах (А, В, С) із повним циклом виробництва (від опоросу до відгодівлі) у Південній Кореї.

Приблизно 530 поросят (у віці близько 3 тижнів) з різних трьох ферм (А, В, С) розподілили на дві групи: перша (дослідна) – вакциновані тварини (272 поросят), друга (контрольна) – невакциновані (260 поросят). Поросятам першої групи внутрішньом'язово вводили вакцину Інгельвак ЦиркоФЛЕКС® у дозі 1 мл/гол. Невакцинованим поросятм внутрішньом'язово вводили ФБР (фосфатно-буферний розчин) із рН 7,2.

Кожне поросся окремо зважували у віці 3, 10, 16 і 22 тижнів. Рес-

стрували падіж та клінічні ознаки. Клінічне спостереження передбачало виявлення лихоманки, пригнічення, задишки, кашлю, діареї, шкірних уражень, а також змін поведінки.

Локалізацію й кількість антигену ЦВС-2 у свіжих і фіксованих тканинах загиблих поросят (перша група – 20 поросят; друга група – 73 поросяти) оцінювали за даними ПЛР та імуногістохімічного дослідження.

Зразки тканини для ПЛР відбирали з лімфатичних вузлів, мигдалини та легенів, а для імуногістохімічного дослідження – з мигдалини, лімфатичних вузлів, печінки, селезінки, кишківнику й нирок. Кількість ЦВС-2 у тканинах за використання імуногістохімічного методу позначали індексами 0, 1, 2, 3, відповідно. На фермі А в 20 тварин з кожної групи у віці 3, 7, 10, 13, 16 тижнів відбирали зразки крові для оцінювання популяції лейкоцитів. Виснаження лімфоїдних клітин, що є типовою ознакою інфікування ЦВС-2, оцінювали за допомогою рутинних гістопатологічних методів і способом визначення рівня лейкоцитів у крові (табл. 3).

Таблиця 3. Кількість позитивних зразків у ПЛР на ЦВС-2

Тканина	Ферма А		Ферма В		Ферма С	
	Група 1 (дослідна)	Група 2 (контрольна)	Група 1 (дослідна)	Група 2 (контрольна)	Група 1 (дослідна)	Група 2 (контрольна)
Лімфовузли	1/3	21/26	2/3	8/13	6/12	27/32
Легені	0/3	19/27	0/3	9/12	7/12	24/32
Мигдалини	1/3	20/27	1/2	6/12	5/12	22/30

Примітка. Зразки було відібрано у поросят, загиблих під час проведення дослідів. У чисельнику – кількість позитивних проб на ЦВС-2, у знаменнику – загальна кількість загиблих поросят у групі.

Оцінювання результатів

1. Критерії вгодованості

На всіх фермах жива маса тварин віком понад 10 тижнів у вакцинованих групах була значно вища. Середня жива маса 22-тижневих поросят у вакцинованих групах становила 86,4 кг (ферма А), 97,36 (ферма В), 94,29 кг (ферма С). Середня жива маса у невакцинованих групах була 70,1 кг (ферма А), 83,26 (ферма В), 92,55 кг (ферма С).

2. Рівень падежу

У вакцинованих групах рівень падежу знизився на 82% порівняно з невакцинованими (*табл. 1*).

3. Клінічні ознаки

Типові клінічні ознаки цирковірусної інфекції спостерігали лише у невакцинованих тварин, починаючи із 7–8-тижневого віку. Зокрема, важка діарея, посилене дихання, лихоманка й синдром дерматиту та нефропатії поросят.

4. Лабораторні дослідження

Під час проведення ПЛР для виявлення ЦВС-2 кількість отриманих позитивних зразків тканини була значно нижча у перших (вакцинованих) групах поросят (*табл. 2*). Кількість позитивних зразків, одержаних під час імуногістохімічного дослідження, була такою самою, як і за проведення ПЛР. Середній індекс підрахунку позитивних зразків становив 0–1 у дослідних (вакцинованих) групах і 1,5–2,5 – у контрольних (невакцинованих). На фермі В зразки тканин, узятих у поросят із вакцинованої групи, мали індекс 0, тоді як на контролі тканини мали індекс 0,8–1,5. На фермі А структура популяції клітин крові у вакцинованих і невакцинованих поросят значно різнилася. У невакцинованій групі рівень лейкоцитів у крові тварин зазвичай був нижчий.

Ці дослідження показали, що завдяки вакцинації тритижневих поросят проти ЦВС-2 значно збільшився середньодобовий приріст ваги, знизився рівень загибелі й виявів клінічних ознак порівняно з контрольною групою.

Було підтверджено ефективність вакцини для скорочення реплікації вірусу в тканині-мішені й зниження лімфоїдного виснаження, спричинених ЦВС-2 [3].

Імуномодулятори

Імуномодулятори (ІМД) почали входити у ветеринарну практику у ХІХ столітті. Це лікарські засоби різного походження, які мають різноспрямовану дію на імунну систему залежно від її вихідного стану. На сьогодні ІМД називають речовини, здатні позитивно або негативно модулювати імунореактивність організму і підвищувати його природну резистентність – здатність протистояти тій чи іншій інфекції або інвазії. Зміна імунореактивності у відповідь на введення ІМД залежить від безлічі факторів (хімічна структура ІМД, доза, спосіб і схема введення, стан організму і т. ін.).

12.1. Імуномодулятори та специфічні сироватки за лікування СМВП

Світовий досвід показує, що для ліквідації осередків інфекцій-них хвороб поліетіологічного походження зі стійкою патогенною мікрофлорою ефективними є протиепізоотичні заходи, розроблені для певного стада або господарства. Це планове застосування специфічних лікувальних препаратів – специфічних імунних сироваток від тварин-реконвалесцентів та аутовакцин, а також у сполученні з імуномодуляторами нового покоління для підтримання фізіологічного стану тварин. Таким імуномодулятором є аміксин (індуктор ендогенного інтерферону), який пригнічує репродукцію вірусів, стримує розвиток імуносупресивного стану на організм тварин, стимулює стовбурові клітини кісткового мозку [2, 224, 225].

В ННЦ «ІЕКВМ» НААН вивчався імунологічний стан поросят з асоційованим перебігом цирковірусної інфекції, парвовірусної інфекції та репродуктивно-респіраторного синдрому свиней після одночасного використання імуномодулятора аміксину і сироватки галогенної імунної, отриманої від тварин-реконвалесцентів.

Дослідження проводили за виробничих умов у свиногосподарствах і в лабораторіях ННЦ «ІЕКВМ». Вивчали хвороби свиней, клінічну біохімію та імунохімію, молекулярну діагностику та епізоотологію, гельмінтологію на 30 поросятах 40–60-денного віку. Для проведення досліджень було сформовано 2 групи поросят ($n=15$):

I – тварини з клінічними ознаками СМВП; II – контрольна (умовно здорові тварини). Тварин досліджували клінічно, серологічно, бактеріологічно, молекулярно-діагностично та гельмінтологічно. У станках розміщували по 7–8 дослідних тварин. Дослідну групу формували з клінічно хворих на СМВП тварин, які були серопозитивними на ЦВС-2, ПВС, РРСС. Наявність збудників цих вірусів у крові хворих поросят встановлено за допомогою ПЛР. З носоглотково-вих змивів від поросят не виявлено патогенної бактеріальної мікро-флори, мікоплазм, у пробах фекалій – гельмінтів. Годували тварин згідно з нормами для їхнього віку.

Клінічні ознаки захворювання у поросят: виснаження, відставання у рості, на шкірі локальні червоні плями, дерматит і кашель. Дослідних тварин після комплектування витримали 7 діб для зняття наслідків стресу. Аміксин поросяттам застосовували в дозі 40 мг/гол. тричі з інтервалом 5 діб. Водночас хворим тваринам внутрішньом'язово вводили сироватку галогенну імунну в дозі 3 см³ тричі з інтервалом 2 доби.

На 10-ту добу після завершення дослідів від поросят I та II груп відбирали кров для проведення досліджень її клінічних та біохімічних показників. Досліджено концентрацію загального білка, рівень серомукоїдів (Sm), рівень інтерферону, концентрацію IgM, IgG, рівень Т- та В-клітин.

Рівень інтерферону у сироватці крові визначали за затримкою ЦПД вірусу везикулярного стоматиту, концентрацію загального білка – за біуретовою реакцією, серомукоїди (Sm) – турбідиметричним методом, концентрацію IgM, IgG – методом простої радіальної дифузії за Манчині, оцінку загального рівня Т-клітин – за методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. В-клітини ідентифікували методом розеткування із зимозаном [2, 222, 223].

У результаті визначено показники імунної системи у поросят до та після обробки аміксином та сироваткою (див. *табл. 4*).

Встановлено, що рівень IgM у поросят I групи до використання лікувальних препаратів досягав 2,91 г/л, що в 1,6 раза перевищує

Таблиця 4. Динаміка імунологічних показників у поросят із СМВП до та після застосування аміксіну та сироватки галогенної імунної (n=15) за групами

Показники	До застосування		Після застосування	
	I група	II група	I група	II група
IgM, г/л	2,91±0,30	1,86±0,24	2,14±0,22*	2,52±0,44
IgG, г/л	14,06±2,20	15,26±2,18	26,88±2,46*	13,30±0,51
Загальний білок, г/л	75,52±3,37	66,24±4,26	102,20±3,36	68,28±3,02
Sm, мг/мл	6,21±0,30	3,16±0,28*	3,76±0,32*	3,44±0,18
Інтерферон, МО/см ³	1,60±0,24	1,40±0,20*	4,20±0,20*	1,80±0,20
Т-клітини (CD) ₂ , %	40,60±2,20	43,33±2,11*	48,70±3,60	44,15±1,80
В-клітини, %	16,40±2,60	15,17±2,19	20,80±0,44*	16,18±1,62

* Різниця значень показників тварин I групи вірогідна за $p \leq 0,05$ щодо відповідних показників II групи.

вав цей показник у тварин на контролі (1,86 г/л). IgM з'являються в організмі на ранній стадії імунної відповіді на вірусний антиген, свідчать про гострий інфекційний процес і початок захворювання у поросят дослідної групи. Рівень IgG для поросят 40–50-денного віку не відображає стану імунної системи. Концентрація загального білка у поросят I групи незначно перевищувала показник у контрольній групі, що є ознакою неактивного запального процесу. Рівень імуносупресорних білків-серомукоїдів у хворих тварин був удвічі вищим, ніж у поросят контрольної групи, що пояснюється імуносупресивним впливом вірусів на імунну систему.

Рівень інтерферону у дослідній групі становив 1,6 МО/см³ і вірогідно не відрізнявся від його контрольних значень.

Розеткоутворювальна функція Т-лімфоцитів у поросят дослідної групи стала нижчою на 6,7%, ніж у здорових поросят. Це є ознакою розвитку імунодефіцитного стану в результаті вірусної інфекції поросят, що спричинило зниження активності Т-клітин, порушення співвідношення між Т-хелперами та Т-супресорами.

Також не виявлено активності гуморальних реакцій у тварин за результатами досліджень сироваток крові поросят, де не було вірогідних відмінностей за кількістю розеткоутворювальних В-клітин у групах I та II (16,4±2,6 та 15,17±2,19% відповідно).

За результатами досліджень уже на 10-ту добу після введення препаратів рівень Ig M підвищувався на 49,5% порівняно з показниками контрольної групи, тоді як у контрольній групі цей показник залишався в межах норми.

Концентрація загального білка у сироватці крові поросят дослідної групи підвищилася на 35,3% порівняно з показником до експерименту і на 33,2% від контрольних його значень через зростання рівня імуноглобулінів.

Також після застосування препарату аміксин та сироватки рівень серомуконів знизився на 65,2% порівняно з цим показником до використання імуномодулятора. Це можна пояснити тим, що аміксин має здатність знижувати імуносупресивний вплив вірусів на організм тварин і сприяє активному утворенню антитіл.

Результати попередніх досліджень свідчать про те, що 3-разове введення аміксину стимулює синтез інтерферону. Так, у поросят дослідної групи рівень інтерферону підвищувався у 2,6 раза порівняно з цим показником до застосування препарату і відрізнявся від його значень у контрольній групі у 2,3 раза.

Застосування кількості Т-клітин на 16,6% і В-клітин на 21,2% відповідно корелювало зі змінами рівня інтерферонового профілю [2].

12.2. Дія імуномодуляції на клінічні та патологічні прояви СМВП

У раніше проведених експериментах СМВП-подібні клінічні ознаки захворювання були відтворені через введення безмолозивним поросят чистого ізоляту ЦВС-2 і згідно з постулатами Коха було доведено роль вірусу як основної причини СМВП (Кеннеді та ін., 2000). Однак парвовіруси свиней (Аллан та ін., 1999; Елліс та ін., 1999; Кеннеді та ін., 2000; Krakowka та ін., 2000) або вірус репродуктивного та респіраторного синдрому свиней можуть посилити тяжкість ураження свиней ЦВС-2 в ході експерименту. Зараження поросят-гнотобіотів тільки ЦВС-2 зумовило лише субклінічну картину хвороби. Ці результати показують, що супутні фактори змінюють клінічні та патологічні вияви ЦВС-2 інфекції.

У спробі пояснити вплив наслідків вірусних інфекцій на симптоми ЦВС-2 було висловлено припущення, що ці або інші інфекції синергічно модулюють імунну функцію господаря, призводячи до підвищення реплікації ЦВС-2 у живому організмі (Аль Аллан та ін., 2000). Ця гіпотеза підтверджується результатами недавніх експериментів, в ході яких парентеральне введення стороннього антигену в неповному ад'юванті Фрейнда підвищує патогенність ЦВС-2 у поросят-

гнотобіотів (Krakowka та ін., 2001). Імуномодуляція інфекційними агентами або медикаментами може відігравати важливу роль у спалахах СМВП у стаді свиней, природно інфікованих ЦВС-2.

Автори проводили дослідження на комерційній свинофермі в західній Греції з вересня по грудень 2000 р., де повторно зареєстрували спалах СМВП, який було підтверджено виявленням антигену ЦВС-2, нуклеїнових кислот і характерних уражень у тканинах хворих свиней. За рік до початку експерименту у свиней на цій фермі були виявлені антитіла до вірусу РРСС і вірусу грипу. Свиноматок і поросят вакцинували проти хвороби Ауескі, атрофічного риніту, колібактеріозу, бешихи і клостридіозу. Племінне поголів'я лікували, додаючи в корм хлортетрациклін упродовж 8 днів три рази на рік; крім того, лікували в звичайному порядку від внутрішніх та зовнішніх паразитів.

Піддослідні тварини мали таке саме походження. На 28-й день життя вони були переведені в окреме приміщення, в якому вентиляція і температура автоматично підтримувалися на потрібному рівні. У ході експерименту тварин годували, дотримуючись змішаного раціону, заснованого на кукурудзі й сої та розробленого відповідно до вимог Національної дослідницької ради з годівлі поросят. У корм вводили лінкоміцин і спектиноміцин, а також хлортетрациклін з профілактичною метою.

Був підтверджений ефект впливу на СМВП визнаного неспецифічного імуномодулювального препарату (Ваурапун®, Байєр, Німеччина) та вакцини проти ензоотичної пневмонії (RespiSure*, Pfizer Inc, США). Ваурапун® є імуномодулятором на основі штаму парапексвірусу овець D1701 (Ел Бютнер та ін., 1987). Для використання в експерименті ліофілізований Ваурапун® був розчинений відповідно до рекомендацій виробника. Кожні 2 мл (рекомендована доза) препарату містили щонайменше 10_{6,75} ТЦД₅₀ парапексвірусу овець як активного інгредієнта і 50 мг полігеліну як стабілізатора.

RespiSure* ліцензований в Європейському Союзі для проведення вакцинації здорових свиней для запобігання ензоотичній пневмонії, спричиненій *Mycoplasma hyorhynchopneumoniae*. Він містить хімічно інактивовану багатоклітинну культуру *hyorhynchopneumoniae* М поряд з міцелярним ад'ювантом лецитину для зміцнення й продовження імунної відповіді, вводився в дозі 2 мл відповідно до рекомендацій заводу-виробника.

Для експерименту були відібрані 84 поросята 7-денного віку, отримані від 10 свиноматок.

Поросята з кожного посліду були рівномірно розподілені між трьома експериментальними групами для зведення до мінімуму міжгрупових варіацій. Всі поросята залишалися в межах своїх груп до відлучення на 28-й (± 2) день життя.

Поросятam першої групи внутрішньом'язово ввели по 2 см³ RespiSure* на 7-й і 28-й день життя, а на 42-й день – внутрішньом'язово по 2 см³ фізіологічного розчину. Тваринам другої групи на 7-й день життя внутрішньом'язово ввели по 2 см³ фізіологічного розчину, а на 28-й і 42-й день життя – по 2 см³ Ваурамин®. Поросята третьої (контрольної) групи отримували внутрішньом'язово ін'єкції лише по 2 см³ фізіологічного розчину як плацебо на 7-, 28- і 42-й день життя.

Після відбирання за поросятами здійснювався щоденний контроль упродовж 45 днів. Тваринам, у яких спостерігали розвиток клінічних ознак, була призначена парентеральна антибактеріальна терапія. У ході експерименту фіксували загальний рівень клінічних ознак захворювання та смертності серед усіх свиней на фермі. Наприкінці періоду спостереження з кожної групи відібрали трьох поросят, взяли у них зразки крові і вбили внутрішньовенним введенням натрію пентобарбіталу для подальшого розтину. Сироватки крові цих тварин були протестовані методом імуноферментного аналізу на наявність антитіл проти РРСС, хвороби Ауескі та грипу.

Зразки легенів, печінки, нирок, селезінки і лімфатичних вузлів (пахові, мезентеріальні, середостінні) були відібрані під час розтину поросят, убитих у кінці експерименту. Тканини були занурені в 10%-й нейтральний формалін, зневоднені і залиті в парафін за стандартними методиками. Потрібні ділянки були вирізані й пофарбовані гематоксиліном та еозином для мікроскопічного дослідження.

Вибрані ділянки були ідентифіковані за імуногістохімічним методом для виявлення ЦВС-2 антигену. Ця процедура була аналогічно описана раніше (Кеннеді та ін., 2000), за винятком того, що моноклональні антитіла до ЦВС-2 (Аллан та ін., 1998) використовувалися як первинні антитіла, а козяча антимишина сироватка крові була використана як вторинні антитіла. Лімфатичні вузли свиней з ЦВС-2 були використані як позитивний контроль. Негативні процедури

контролю включали відсутність первинних антитіл або заміщення недоречних антитіл на обраних ділянках.

По закінченні досліджу, автори надали такі результати. Клінічні ознаки, характерні для СМВП, були виявлені у тварин усіх трьох груп. Ці ознаки включали блідість, схуднення, задишку і діарею (*табл. 5*); крім того, не було реакції на антимікробну терапію.

Таблиця 5. Дія імуномодуляції на СМВП

Результати	Група		Контрольна група
	RespiSure*	Vaуramun®	
Блідість шкіряного покриву	11	13	3
Схуднення	6	7	1
Задишка	5	6	1
Діарея	6	7	2
Загальна кількість: хворих поросят	12	14	3
загиблих	6	6	1

Середній вік початку СМВП був 41–48 днів життя у групі, що отримували Ваурамун® і 41–45 днів у групі тварин, вакцинованих RespiSure*. Вік початку СМВП для контрольної групи й для інших 823 свиней, які перебували на фермі впродовж експерименту, був 46+3–8 і 45+3–6 днів відповідно. Відсоток клінічно постраждалих свиней у контрольній групі (10,7%) був значно меншим ($p < 0,05$), ніж відповідні показники в групах Ваурамун® (50,0%) і RespiSure* (42,9%). Не було особливих відмінностей між загальною кількістю постраждалих свиней у групах Ваурамун® і RespiSure* (*табл. 5*).

Шість свиней у кожній з груп померли в ході експерименту, проте ніяких статистичних міжгрупових відмінностей у смертності не відзначено ($p < 0,05$) (*табл. 5*). У ході експерименту 84 з 823 свиней (10,2%) на фермі показали клінічні ознаки, зумовлені СМВП; 42,3% з них померли або були вбиті гуманним способом через виснаження. У сироватці крові убитих свиней не було виявлено антитіл до вірусів РРСС, Ауескі або грипу.

У всіх шести свиней, які загинули в ході експерименту і отримали Ваурамун® або RespiSure*, були виявлені характерні симптоми СМВП, зокрема помірне та значне збільшення у розмірі мезентеріальних, середостінних і бронхіальних лімфатичних вузлів. Були виявлені помірні набряки й виразка шлунку. Тільки в одній свині

з контрольної групи було відзначено легке збільшення мезентеріальних, середостінних та бронхіальних лімфатичних вузлів і селезінки. Мала місце й помірна атрофія печінки. У всіх поросят з груп Ваурапун® і RespiSure*, убитих у кінці експерименту, були в наявності симптоми помірних та важких уражень СМВП.

Гістопатологічна експертиза легеневої тканини у 6 свиней з групи, вакцинованої Ваурапун®, загиблих в ході експерименту, пока-зала помірні ураження у 2 свиней і тяжкі ураження у 4, характерні для інтерстиціальної пневмонії. Ці ураження, виражені в потов-щенні альвеолярної перегородки та інфільтрації перегородками з моноядерними- клітинами, можуть бути пов'язані з гіперплазією пе-рибронхіолярної лімфоїдної тканини. Ознаки лімфоцитарного ви-снаження і гістіоцитичної інфільтрації були відзначені в селезінці й мезентеріальних лімфатичних вузлах у всіх 6 свиней.

Помірні у 4 свиней і серйозні у 2 ураження легень у групі вакци-нованих RespiSure* були аналогічні тим, що спостерігалися в групі, яка отримувала Ваурапун®. Усі 6 тварин страждали від лімфоци-тарного виснаження і гістіоцитичної інфільтрації селезінки та ме-зентеріальних лімфатичних вузлів; синцитії були в цих органах у 3 свиней.

Велика кількість ЦВС-2 антигену виявлена у всіх лімфатич-них вузлах і лімфоїдних тканинах у свиней групи вакцинованих RespiSure*.

В однієї свині, що загинула в ході експерименту, було виявле-но помірне ураження, характерне для інтерстиціальної пневмонії. Слабке лімфоцитарне виснаження, гістіоцитична інфільтрація і синцитії були виявлені в селезінці та мезентеріальних лімфатичних вузлах.

Важке лімфоцитарне виснаження відзначено в лімфатичних вуз-лах усіх 3 свиней з групи вакцинованих Ваурапун®, убитих в ході експерименту. В однієї свині був виявлений інтерстиціальний не-фрит [1].

СМВП є новим тяжким захворюванням у багатьох країнах. Вва-жають, що свині, заражені ЦВС-2, хворіють тільки в легкій або без-симптомній формах. Є експериментальний доказ того, що супутні фактори, зокрема РРСС і вірус грипу свиней, за неспецифічної імун-ної стимуляції (Аллан та ін., 2000 р.; Krakowka та ін., 2001) можуть мати істотний вплив на наслідки ЦВС-2 інфекції, якій піддаються

свині. Ці дані привели до пошуку інших інфекційних агентів, які можуть впливати на клінічні вияви ЦВС-2.

У ході експерименту у 50% поросят, яким вводили Bayramun®, і 42,9%, яких вакцинували RespiSure*, виявилися клінічні ознаки, характерні для СМВП (Хардинг і Кларк, 1997); шість поросят із кожної групи загинули. Помірні й тяжкі гістопатологічні пошкодження, типові для СМВП, були відзначені у 12 трупах і 3 поросят, які загинули у кожній групі в кінці 45-денного періоду нагляду. Ці пошкодження асоціювались з накопиченням ЦВС-2 антигену в лімфоїдній тканині і паренхіматозних органах, що типово для СМВП. На противагу цьому, тільки у 10,7% поросят у контрольній групі виявились клінічні ознаки, і лише одне порося загинуло.

Перебіг хвороби у згадуваних вище поросят у досліді був аналогічним перебігу хвороби на цій фермі в інших тварин, уражених СМВП, в післявідлучний період (10,2%).

Зазначені результати показують, що введення поросят Bayramun® або RespiSure* збільшувало тяжкість протікання хвороби під час спалаху СМВП. Отже, це дослідження показує, що вакцини чи то інші медикаменти збільшують тяжкість СМВП свиней, інфікованих ЦВС-2 природним шляхом [1].

Додатки

Поросята,
хворі на ЦВІС



Геморагії
на шкірі



Кон'юнктивіт і
некроз вух



Геморагічний
некротичний
васкуліт



Множинний
лімфаденіт
при ЦВІС

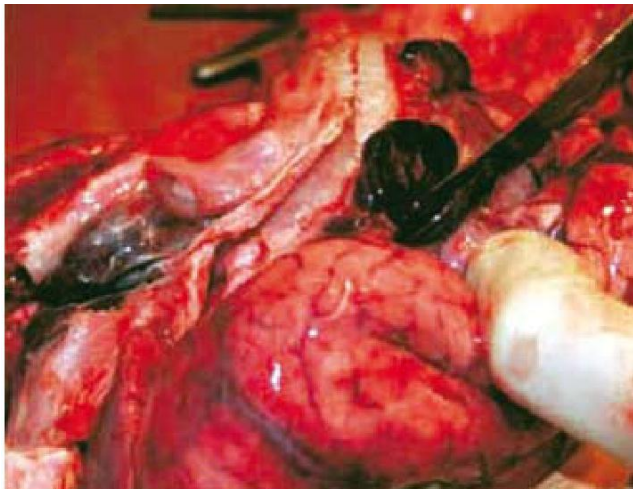


Збільшення
лімфатичних
вузлів
брюші



Збільшення
пахових
лімфатичних
вузлів та їх
гіперемія

Набряк
легень,
геморагічні
лімфатичні
вузли



Запалення
селезінки
при ЦВІС



Крайові
вогнища
некрозу
на селезінці





Скупченість
тварин



Блідість
шкіряних
покривів та
виснаженість



Ателектас
верхівкових
часток
легенів



Застійна
гіперемія
печінки з
вогнищами
жирової
дистрофії



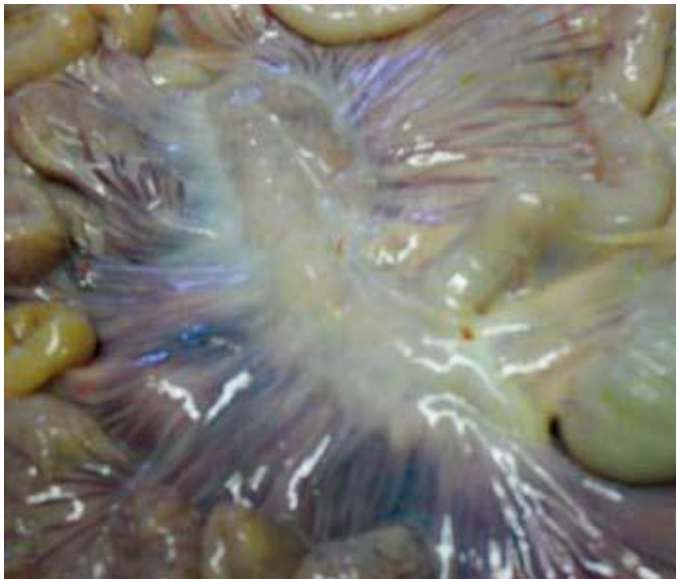
Ураження нирок



Кровонаповнена та збільшена в розмірах селезінка



Макрокартина
кишківнику



Ураження
мезен-
теріальних
лімфатичних
вузлів



Хворі та слабкі поросята
з низькими показниками
росту



Збільшення пахвових
та брижових
лімфатичних
вузлів

Використана література

1. *Сокращенный* перевод по материалам исследования S. C. Kyriakis, K. Saoulidis, S. Lekkas, Ch.C. Miliotis, P. A. Papoutsis, S. Kennedy «The effects of Immuno-modulation on the Clinical and Pathological Expression of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome». Воздействие иммуномодуляции на клинические и патологические проявления послеотъемного мультисистемного синдрома истощения // Сучасна ветеринарна медицина. – 2010. – № 1. – С. 17–20.
2. *Кольчик О. В.* Застосування імуномодулятора та специфічної сироватки для лікування синдрому мультисистемного виснаження відлучених поросят // Вісн. аграр. науки. – 2013. – № 3. – С. 37–38.
3. *Young S.* Lyoo, Sun-young Sunwoo. Ветеринарний коледж при Університеті Конкук, Сеул; *San Kim* «Берінгер Інгельхайм Ветмеди-ка», Сеул, Південна Корея. Вакцинація проти цирковірусної інфекції: оцінка ефективності // Пропозиція. – 2014. – №1. – С.170–171.
4. *Гринин А. С.* Очистка, концентрирование и фракционирование вирусных животных/ А.С. Гринин, И.Н. Титов. – М.: Колосс, 1971. – 213 с.
5. *Максимов Т. П.* Сравнительная эффективность двух коммерческих вакцин против ЦВС-2 / Т. П. Максимов // Сучасна ветеринарна медицина. – 2012. – № 2. – С. 44–45.
6. *Цирковірусна інфекція свиней* (Епізоотологія, етіологія, методи та особливості діагностики на території України) / В. В. Недосєков, А. В. Гавриленко, І. Л. Фурда // Ветеринарна біотехнологія. – 2014. – № 24. – С. 132–137.
7. *Experimental* reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus / P. A. Harms, S. D. Sorden, P. G. Halbur [et al.] // Vet. Pathol. – 2001. – V. 38. – P. 528–539.
8. *Эпизоотологическое* и экономическое значение цирковиральной инфекции свиней и проблемы ее профилактики в современных усло-

- виях промислового свиноводства / С. И. Прудников, А. Н. Шкры-лев, А. И. Колобаев и др. // Свиноводство. – 2013. – №1.
9. *Development and application of a competitive enzyme-linked immuno-sorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2* / I. W. Walker, C. A. Konoby, V. A. Jewhurst [et al.] // J. Vet. Di-agn. Invest. – 2000. – V. 12. – P. 400–405.
 10. *Nested PCR detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen collected from naturally infected boars* / K. A. McIntosh, J. C. S. Harding, J. A. Ellis, G. D. Appleyard // Proc. Int. Conf. on Ani-mal Circoviruses and Associated Diseases / Queen's University. – Belfast, Northern Ire-land, UK. – 2005. – P. 93.
 11. *Green, L. E.* Post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs: risks and associated laboratory test results // L. E. Green, K. A. Wood-bine, M. J. Turner // Proc. Int. Conf. on Animal Circoviruses and Asso-ciated Diseases / Queen's University. – Belfast, Northern Ireland, UK. – 2005. – P. 23.
 12. *Presence and extent of PCV2 infection and associated disease in the pig population of Ireland* / M. Donnelly, D. Minihan, D. Walls [et al.] // Proc. Int. Conf. on Animal Circoviruses and Associated Diseases // Queen's University, Belfast. – Northern Ireland, UK. – 2005. – P. 84.
 13. *Этиологическая структура инфекционных болезней свиней в жи-вотноводческих хозяйствах России* / А. В. Щербаков, В. Ф. Кова-лишин, А. С. Яковлева, Е. В. Шабаева // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. – Владимир, 2003. – С. 146–150.
 14. *A very small porcine virus with circular single-stranded DNA* / I. Tischer, H. Gelderblom, W. Vettermann, M. A. Koch // Nature. – 1982. – V. 295. – P. 64–66.
 15. *Seroprevalence against PCV2 in demographic managed wild boars (sus scrofa) in the Gessi biolognesi regional park, Emilia-Romagna region, Northern Italy* / M. Delogu, P. Cordioli, G. Sala [et al.] // Proc. Int. Conf. on Animal Circoviruses and Associated Diseases / Queen's Uni-versity. – Belfast, Northern Ireland, UK. – 2005. – P. 85.
 16. *Seroprevalence of porcine circovirus types 1 and 2 in the Belgian pig population* / A. P. Mesu, G. G. Labarque, H. J. Nauwynck [et al.] // Vet. Quart. – 2000. – V. 22. – P. 234–236.
 17. *Северин Р. В.* Епізоотологічний моніторинг, виділення та вивчен-ня властивостей збудника цирковірусної інфекції свиней: авто-

- реф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук : 16.00.03 / Р. В. Северин. – Харків, 2011. – 22 с.
18. *Evidence for circovirus in cattle with respiratory disease and from aborted bovine fetuses* / G. P. S. Nayar, A. L. Hamel, L. L. Lin [et al.] // *Can. Vet. J.* – 1999. – V. 40. – P. 227–278.
19. *Сатина, Т. А.* Цирковиральные инфекции свиней. Обзор литературы / Т. А. Сатина. – Владимир, 2003. – 101 с.
20. *Шкаева М. А.* Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления антител к цирковирусу свиней второго типа : автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук : 03.00.06 / М. А. Шкаева. – Москва, 2006. – 121 с.
21. *Тимина А. М.* Разработка методов лабораторной диагностики цирковиральной инфекции свиней : автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. ветеринарных наук : 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология» / А. М. Тимина. – Владимир, 2006. – 130 с.
22. *Harding, J. C. S.* The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2 / J. C. S. Harding // *Vet. Microbiol.* – 2004. – V. 98. – P. 131–135.
23. *Segalés, J.* Porcine circovirus diseases / J. Segalés, G. M. Allan, M. Domingo // *Animal Health Research Reviews.* – 2005. – Vol. 6. – P. 119–142.
24. *Straub O. C.* Circovirus Typ 2 – ein neuer Krankheitserreger in Schweinebeständen / O. C. Straub // *Tierärztl. Umschau.* – 1999. – Bd. 54, N11. – P. 638–640.
25. *Clark, E. G.* Pathology of post-weaning multisystemic wasting syndrome of pigs / E. G. Clark // *Proc. West. Can. Assoc. Swine Pract.* – 1996. – P. 22–25.
26. *Opriessnig, T.* Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies / T. Opriessnig, X. J. Meng, P. G. Halbur // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* – 2007. – Vol. 19. – P. 591–615.
27. *Harding, J. C. S.* Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): preliminary epidemiology and clinical presentation / J. C. S. Harding- // *Proc. West. Can. Assoc. Swine Pract.* – 1996. – P. 21.
28. *Premiers résultats du CNEVA sur le déperissement fatal du porcelet en fin de post-sevrage* / E. Albina, R. Cariolet, E. Eveno [et al.] // *Suppl. Sem. Vet.* – 1996. – V. 834. – P. 1–2.

29. *Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): epidemiology and clinical presentation* / J. C. Harding, E. G. Clare, J. H. Strokappe [et al.] // *Swine Health Prod.* – 1998. – N 6. – P. 249–254.
30. *Clark, E. G. Post-weaning multisystemic wasting syndrome* / E. G. Clark // *Proc. Am. Assoc. Swine Pract.* – 1997. – P. 499–501.
31. *Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2)* / S. Krakowka, J. A. Ellis, F. McNeilly [et al.] // *Vet. Pathol.* – 2001. – V. 38. – P. 31–42.
32. *First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain* / J. Segales, M. Sitjar, M. Domingo [et al.] // *Vet. Rec.* – 1997. – V.141, № 23. – P. 600–601.
33. *Cellular localization of porcine circovirus in postweaning pigs with chronic wasting disease* / M. Kiupel, G. W. Stevenson, C. L. Kanitz [et al.] // *Eur. J. Vet. Pathol.* – 1999. – V. 5. – P. 77–82.
34. *Porcine circovirus induces B lymphocyte depletion in pigs with wasting disease syndrome* / T. Shibahara, K. Sato, Y. Ishikawa, K. Kadota // *J. Vet. Med. Sci.* – 2000. – V. 62. – P. 1125–1131.
35. *Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence* / I. Tischer, D. Peters, R. Rasch, S. Pociuli // *Arch. Virol.* – 1987. – V. 96. – P. 39–57.
36. *Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life* / R. E. Sanchez, P. Meerts, H. J. Nauwynck, M.B. Pensaert // *Vet. Microbiol.* – 2003. – V. 95. – P. 15–25.
37. *In vitro studies on the infection and replication of porcine circovirus type 2 in cells of the porcine immune system* / D. F. Gilpin, K. McCullough, B. M. Meehan [et al.] // *Vet. Immunol Immunopathol.* – 2003. – V. 94. – P. 149–161.
38. *Rozell, C. Hepatitis and staging of hepatic damage in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2* / C. Rozell, J. Segales, M. Domingo // *Vet. Pathol.* – 2000. – V. 37. – P. 687–692.
39. *Patological, immunohistochemical, and in-situ hybridisation studies of natural cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in pigs* / C. Rosell, J. Segales, J. Plana-Duran [et al.] // *J. Comp. Patol.* – 1999. – V. 120. – P. 59–78.
40. *Allan, G. M. Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus* / G. M. Allan, S.Kennedy//*J. Comp. Pathol.* – 1999. – V. 121. – P. 1–11.

41. *Experimental* reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus / P. A. Harms, S. D. Sorden, P. G. Halbur [et al.] // *Vet. Pathol.* – 2001. – V. 38. – P. 528–539.
42. *Postweaning* multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrums-deprived pig-lets with type 2 porcine circovirus / S. R. Bolin, W. C. Stoffregen, G. P. S. Nayar, A. L. Hamel // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2001. – V. 13. – P. 185–194.
43. *Immunohistochemical* characterization of the lymph node reaction in pig post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / G. Sarli, L. Mandrioli, M. Laurenti [et al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2001. – V. 83. – P. 53–67.
44. *Cytokine mRNA* expression profiles in lymphoid tissues of pigs naturally affected by postweaning multisystemic wasting syndrome / L. Darwich, S. Pie, A. Rovira [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2003. – V. 84. – P. 2117–2125.
45. *Haematological parameters* in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs / J. Segales, J. Pastor, R. Cuenca [et al.] // *Vet. Rec.* – 2000. – V. 146. – P. 675–676.
46. *Changes* in the CD4+, CD8+, CD4+/CD8+ double positive cells and Ig M+ cells subsets in peripheral blood mononuclear cells from postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs and age matched uninfected wasted and healthy pigs, correlates with lesions and porcine circovirus type 2 load in lymphoid tissues / L. Darwich, J. Segales, M. Domingo, E. Mateu // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2002. – V. 9. – P. 236–242.
47. *Changes* in peripheral blood leukocyte populations in pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / J. Segales, F. Alonso, C. Rosel [et al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2001. – V. 81. – P. 37–44.
48. *Brunborg, I. M.* Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR / I. M. Brunborg, T. Moldal, C. M. Jonassen // *J. Virol. Meth.* – 2004. – V. 122. – P. 171–178.
49. *Association* of lymphopenia with porcine circovirus type 2 induced postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / J. Nielsen,

- I. E. Vincent, A. Botner [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2003. – V. 92. – P. 97–111.
50. *Experimental* infection of 3-week-old piglets with PCV2 altered the level of various peripheral blood leukocyte populations / J. Niesen, I. Vinsent, A. S. Ladekjaer-Mikkelsen [et al.] // Proceeding of the ssDNA viruses of Plants, Birds, Pigs and Primates, Saint-Malo 2001. ZOO-POLE Development (ISPAIA), France. – P. 96.
51. *Kim, J.* Expression of monocyte chemoattractant protein-1 but not interleukin-8 in granulomatous lesions in lymph nodes from pigs naturally occurring postweaning multisystemic wasting syndrome / J. Kim, C. Chae // Vet. Pathol. – 2003. – V. 40. – P. 181–186.
52. *Immunologic* features of porcine circovirus type 2 infection / S. Krakowka, J. A. Ellis, F. McNeilly [et al.] // Virol. Immunol. – 2002. – V. 15. – P. 567–582.
53. *Pathologic* lesions of experimental PMWS in gnotobiotic swine infected with PCV2 and immunized with a strong macrophage-targeted adjuvant / S. Krakowka, J. Ellis, F. McNeilly [et al.] // Proceeding ssDNA viruses of Plants, Birds, Pigs and Primates, Saint-Malo 2001. ZOO-POLE Development (ISPAIA), France. – P. 133.
54. *Coinfection* by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs with naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome / J. A. Ellis, A. Bratanich, E. G. Clare [et al.] // J. Vet. Diagn. Invest. – 2000. – V. 12. – P. 21–27.
55. *Reproduction* of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus / S. Kennedy, D. Moffet, F. McNeilly [et al.] // J. Comp. Pathol. 2000. – V. 122. – P. 9–24.
56. *Experimental* infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS) potentiates PCV2 replication / G. M. Allan, F. McNeilly, J. Ellis [et al.] // Arch. Virol. – 2000. – V. 145. – P. 2421–2429.
57. *Reproduction* of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in immunostimulated and non-immunostimulated 3-week-old piglets experimentally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2) / A.-S. Ladekjaer-Mikkelsen, J. Nielsen, T. Stadejek [et al.] // Vet. Microbiol. 2002. – V. 89. – P. 97–114.
58. *Characterization* of PCV-2 isolates from Spain, Germany and France /

- A. Mankertz, M. Domingo, J. M. Folch [et al.] // *Virus. Res.* 2000. – V. 66. – P.65–77.
59. *Evidence of HIV-1 adaptation to HLA-restricted immune responses at a population level* / C. B. Moore, M. John, I. R. James [et al.] // *Science.* – 2002. – V. 296. – P. 1439–1443.
60. *The influence of ovine MHC class II DRB1 alleles on immune re-sponse in bovine leukemia virus infection* / S. Konnai, S. N. Takeshima, S. Tajima [et al.] // *Microbiol. Immunol.* – 2003. – V. 47. – P. 223–232.
61. *Clinical and pathological observations on pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome* / J. Quintana, J. Segales, C. Rosell [et al.] // *Vet. Rec.* – 2001. – V. 149. – P. 357–361.
62. *Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome* / M. Balasch, J. Segales, C. Rosel [et al.] // *J. Comp. Pathol.* – 1999. – V. 121, N2. – P. 139–148.
63. *Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2* / A. Rovira, M. Balash, J. Segales [et al.] // *J. Virol.* – 2002. – V. 76. – P. 3232–3239.
64. *Immunostimulation, PCV-2 and PMIS* / G. M. Allan, F. McNeilly, S. Kennedy [et al.] // *Vet. Rec.* – 2000. – V. 147. – P. 170–171.
65. *Smith, W. J. Dermatitis / nephropathy syndrome of pigs* / W. J. Smith, J. R. Thomson, S. Done // *Vet. Ree.* – 1993. – V. 132. – P. 147.
66. *Thibault, S. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine* / S. Thibault, R. Magar, R. Larochelle // *Vet. Pathol.* – 1998. – V. 35. – P. 108–116.
67. *Hamel, A. L. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs* / A. L. Hamel, L. L. Lin, G. P. Nayar // *J. Virol.* – 1998. – V. 72, N6. – P. 5262–5267.
68. *Hines, R. K. Porcine circovirus as a cause of congenital tremors in new-born pigs* / R. K. Hines, P. D. Lukert // *Proc. Amer. Assoc. Swine Pract.*, 1994. – P. 344–345.
69. *Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR* / R. Larochelle, M. Antaya, M. Morin [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 1999. – V.80, N1. – P. 69–75.
70. *Nayar, G. P. Detection and characterization of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs* / A. Hamel, L. Lin // *Can Vet J.* –1997. – V. 38. – P. 385–386.

71. *Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / J. Segales, M. Calsamiglia, A. 01 vera [et al.] // Vet. Microbiol. – 2005. – V. 111, N 3–4. – P. 223–229.*
72. *Detection of a novel strain of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome / I. Morozov, T. Sirinarumitr, S. D. Sorderi [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1998. – V. 36. – P. 2535–2541.*
73. *New pig disease in Hungary: postweaning multisystemic wasting syndrome caused by circovirus (short communication) / I. Kiss, S. Kecskemeti, T. Tuboly [et al.] // Acta Vet. Hung. – 2000. – V. 48, N4. – P.469– 475.*
74. *Hinrichs, U. Klinische und pathomorphologische Erscheinungsformen des porzinen Dermatitis-Nephropathie Syndroms / U. Hinrichs // Amtstierärztlicher Dienst. – 2000. – Bd.1. – P. 553–555.*
75. *Allan, G. M. Porcine circovirus: a review / G. M. Allan, J. A. Ellis // J. Vet. Diagn. Invest. 2000. – V. 12. – P. 3–14.*
76. *Chae, C. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases / C. Chae // Vet. J. – 2005. – V. 169. – P. 326–336.*
77. *Darwich, L. Patogénesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by Porcine circovirus 2: an immune riddle / L. Darwich, J. Segales, E. Mateu // Arch. Virol. – 2004. – V. 149. – P. 857–874.*
78. *An experimental model for post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in growing piglets / E. Albina, C. Truong, E. Hutet [et al.] // J. Comp. Pathol. – 2001. – V. 125. – P. 292–303.*
79. *Орлянкин Б. Г. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б. Г. Орлянкин // Животноводство России. – 2009. – № 5. – С.35–36.*
80. *Halbur P. G. Comparative pathogenicity of nine US Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model / P. G. Halbur, P. S. Paul, X. J. Meng, M. A. Lum, J. J. Andrews, J. A. Rathje // J Vet Diagn Invest 1996. – Vol. – 8. – P. 11–20.*
81. *Allan G. M. PCV-2 associated PDNS in Northern Ireland in 1990: porcine dermatitis and nephropathy syndrome / G. M. Allan, E. McNeilly, S. Kennedy [et al.] // Vet Rec. – 2000. – Vol. 146. – P. 711–712.*
82. *Fenaux M. Detection and in vitro and in vivo characterization of porcine circovirus DNA from a porcine-derived commercial pepsin prod-*

- uct / M. Fenaux, T. Opriessnig, P. G. Halbur [et al] // J. Gen Virol . – 2004. – Vol. 85. – P. 3377–3382.
83. *Larochelle R.* Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from cases presenting various clinical conditions / R. Larochelle, M. Magar & S. D'Allaire // *Virus Res.* – 2002. – Vol. 90. – P. 101–112.
84. *Fenaux M.* Two amino acid mutations in the capsid protein of type 2 porcine circovirus (PCV2) enhanced PCV2 replication in vitro and attenuated the virus in vivo / M. Fenaux, T. Opriessnig, P. G. Halbur, F. Elvinger, X.J. Meng // *J. Virol* 2004. – Vol. 78. – P. 13440–13446.
85. *Thomson J. R.* Porcine dermatitis and nephropathy syndrome: clinical and pathological features of cases in the United Kingdom (1993–1998) / J. R. Thomson, R. J. Higgins, W. J. Smith, S. H. Done // *J. Vet Med A.* – 2002. – Vol. 49. – P. 430–437.
86. *Wellenberg G. J.* The presence of coinfections in pigs with clinical signs of PMWS in The Netherlands: a case-control study. G. J. Wellenberg, N. Stokhofe-Zurwieden, W. J. A. Boersma, de M. F. Jong, A. R. W. Elbers // *Research in Vet. Sci.* – 2004. – Vol. 77. – P. 177–184.
87. *Carrasco L.* Intestinal chlamydial infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs / Carrasco, L., J. Segale rs, M. J. Bautista, J. C. Go rmez-Villamandos, C. Rosell, E. Ruiz-Villamor and M. A. Sierra // *Vet. Rec.* – 2000. – Vol. 14. – P. 21–23.
88. *Kennedy S.* Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus / S. Kennedy, D. Mof- fett, F. McNeilly [et al] // *J. Comp Pathol.* – 2000. – Vol. 122. – P. 9–24.
89. *Larochelle R.* Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from cases presenting various clinical conditions / R. Larochelle, M. Magar & S. D'Allaire // *Virus Res.* – 2002. – Vol. 90. – P. 101–112.
90. *Kim J.* Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory dis-ease complex / J. Kim, H. K. Chung, C. Chae // *Vet J.* – 2003. – Vol. 166. – P. 251–256.
91. *Lefebvre D. J.* Antigenic differences among porcine circovirus type 2 strains, as demonstrated by the use of monoclonal antibodies / D. J. Lefebvre, - S. Costers, J. Van Doorselaere, G. Misinzo, P. L. Delputte and H. J. Nauwynck // *Journal of General Virology.* – 2008. – Vol. 89. – P. 177–187

92. *Kim J.* Necrotising lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 in pigs / J. Kim, C. Chae // *Vet Rec.* – 2005. – Vol. 156. – P. 177–178.
93. *Шкаева М. А.* Иммуноферментный метод выявления антител к цирковирусу свиней второго типа с применением рекомбинантно-го капсидного белка ORF-2 / Шкаева М.А. и др. // *Вопросы вирусологии.* – 2006. – № 5. – С. 4–8.
94. *Малоголовкин А. С.* Биологические и генетические характеристики цирковирусов свиней: автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук / А. С. Малоголовкин. – Покров, 2009. – 24 [8] с.
95. *Байбиков Т. З.* Профилактика основных вирусных болезней свиней в промышленном свиноводстве: материалы секции «Проблемы инфекционной патологии свиней» / Т. З. Байбиков, С. А. Кукушкин // *Всероссийский ветеринарный конгресс.* – Москва, 2007.
96. *Hamel A. L.* PCR detection and characterization of type-2 porcine circo-virus / A. L. Hamel, L. L. Lin, C. Sachvie, E. Grudeski & G. P. Nayar // *Can J. Vet Res.* – 2000. – Vol. – 64. – P. 44–52.
97. *Opriessnig T.* Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfectd with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus / T. Opriessnig, M. Fenaux, S. Yu, et al. *Vet Microbiol.* – 2004. – Vol. – 98. – P. 209– 220.
98. *Kim J.* Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1 and PCV-2 in boar se-men using a multiplex nested polymerase chain reaction / J. Kim, D. U. Han, C. Choi, C. Chae / *J. Virol Methods.* – 2001. – Vol. 98. – P. 25–31.
99. *Kim J.* Genetic characterization of porcine circovirus-2 field isolates from PMWS pigs / J. Kim, H. & Lyoo Y. S. // *J. Vet Sci.* – 2002. – Vol. – 3. – P. 31–39.
100. *Brunborg I. M.* Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real- time PCR / I. M. Brunborg, T. Moldal, C. M. Jonassen // *J. Virol Methods.* – 2004. – Vol. 122. – P. 171–178.
101. *Ellis J.* Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multi- systemic wasting syndrome / J. Ellis, L. Hassard, E. Clark. et al. *Can Vet J.* 1998. – Vol. 39. – P. 44–51.
102. *Harris Ch.* Timing Crucial for Circovirus Vaccination // [Электронний ресурс.] – Режим заступа: <http://www.thepigsite.com/articles/1/pig-health/2490/timing-crucial-for-circovirus-vaccination>.

103. Allan G. M. Porcine circoviruses: a review / G. M. Allan, J. A. Ellis // J. Vet Diagn Invest. – 2000. – Vol. 12. – P. 3–14.
104. Huang C. Multiplex PCR for rapid detection of pseudorabies virus, porcine parvovirus and porcine circoviruses / C. Huang, J. J. Hung, C.Y. Wu., M. S. Chien // Vet Microbiol. – 2004. – Vol. 101. – P. 209–214.
105. Krakowka S. Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2) / S. Krakowka, J. A. Ellis, F. McNeilly [et al] // Vet Pathol. – 2001. – Vol. 38. – P. 31–42.
106. Allan G. M. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland / G. M. Allan, F. McNeilly, B. M. Meehan [et al] // Vet Microbiol. – 1999. – Vol. 66. – P. 115–123.
107. Ferreira D. Attempt to use serotherapy to control mortality in PMWS / Proc Conf ssDNA Viruses, Plants, Birds, Pigs, and Primates. – 2001. – 144 p.
108. Lefebvre D. J. Antigenic differences among porcine circovirus type 2 strains, as demonstrated by the use of monoclonal antibodies / D. J. Lefebvre, S. Costers, J. Van Doorselaere, G. Misinzo, P. L. Delputte and H. J. Nauwynck // Journal of General Virology. – 2008. – Vol. 89. – P. 177–187.
109. Hasslung F. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in Sweden and Denmark with a Swedish isolate of porcine circovirus type 2 / F. Hasslung, P. Wallgren, A.S. Ladeker-Hansen [et al] // Vet Microbiol. – 2005. – Vol. 106. – P. 49–60.
110. Krakowka S. Immunologic features of porcine circovirus type 2 infection / S. Krakowka, J. A. Ellis, F. McNeilly [et al] // Viral Immunol. – 2002. – Vol. 15. – P. 567–582.
111. Allan G. M. Isolation of porcine circovirus like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe / G. M. Allan, F. McNeilly, S. Kennedy, et al. // J. Vet Diagn Invest. – 1998. – Vol. 10. – P. 3–10.
112. Jensen T. K. Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by Lawsonia intracellularis / T. K. Jensen, H. Vigre, B. Svensmark, V. Bille-Hansen // J. Comp Pathol. – 2006. – Vol. 135. – P. 176–182.
113. Clark T. Pathology of post-weaning multisystemic wasting syndrome

- of pigs. Proceedings, Annual Meetings of the Western Canadian Association of Swine Practitioners / T. Clark // Saskatoon SK, October 1996. – P. 22–25.
114. *Chae C.* Postweaning multisystemic wasting syndrome; A review of aetiology, diagnosis and pathology / C. Chae // *Vet J.* – 2004. – Vol. 168. – P. 41 – 49.
115. *Choi C.* Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephrology syndrome by double-labeling technique / C. Choi, C. Chae // *Vet Pathol.* – 2001. – Vol. 38. – P. 436–441.
116. *Harding, J.* Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS): preliminary epidemiology and clinical presentation // *Proc. Am. Assoc. Swine Pract.* – 1997. – Vol. 28. – P. 503.
117. *Rovira A.* Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 / A. Rovira, M. Balasch, J. Segales et al. // *J. Virol* 2002. – Vol. 76. – P. 3232–3239.
118. *Hoogland M. J.* Effects of adjuvants on porcine circovirus type 2-associated lesions / M. J. Hoogland, T. Opriessnig, P. G. Halbur // *J. Swine Health Prod.* – 2006. – Vol. 14. – P. 133–139.
119. *Halbur P.G.* Experimental reproduction of pneumonia iotic pigs with porcine respiratory coronavirus isolate AR310 / P. G. Halbur, P. S. Paul, E. M. Vaughn, J. J. Andrews // *J. Vet. Diagn.* – 1993. – V.5, N 2. – P. 184–188.
120. *Harms P. A.* Experimental reproduction of severe disease in CD / CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. / P. A. Harms, S. D. Sorden, P. G. Halbur [et al.] // *Vet Pathol.* – 2001. – Vol. 38. – P. 528–539.
121. *Kim J.* Optimized protocols for the detection of porcine circovirus 2 DNA from formalin-fixed paraffin-embedded tissues using nested polymerase chain reaction and comparison of nested PCR with in situ hybridization. / J. Kim, C. Chae // *J. Virol Methods.* – 2001. – Vol. 92. – P. 105–111.
122. *Blanchard P.* An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome / P. Blanchard, D. Mahe, R. Cariolet [et al] // *Vet Microbiol.* – 2003. – Vol. 94. – P. 183–194.

123. *Allan G. M.* Pathogenesis of porcine circovirus; experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material / G. M. Allan., F. McNeilly, J. P. Cassidy [et al.] // *Vet Microbiol.* – 1995. – Vol. 44. – P. 49–64.
124. *Opriessnig T.* Genetic and experimental comparison of porcine circovirus type 2 (PCV2) isolates from cases with and without PCV2-associated lesions provides evidence for differences in virulence / T. Opriessnig, N. E. McKeown, E. M. Zhou [et al.] // *J. Gen Virol.* – 2006. – Vol. 87. – P. 2923–2932.
125. *Pogranichnyy R.M.* Characterization of immune response of young pigs to porcine circovirus type 2 infection / R. M. Pogranichnyy, K. J. Yoon, P.A. Harms [et al.] // *Viral Immunol.* – 2000. – Vol. 13. – P. 143–153.
126. *Opriessnig T.* Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2 / T. Opriessnig, E. L. Thacker, S. Yu [et al.] // *Vet Pathol.* – 2004. – Vol. 41. – P. 624–640.
127. *Rosell C.* Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs / C. Rosell, J. Segales, J. Plana-Duran [et al.] // *J. Comp Pathol.* – 1999. – Vol. 120. – P. 59–78.
128. *Meerts P.* Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication / P. Meerts, G. S. Van, E. Cox [et al.] // *Viral Immunol.* – 2005. – Vol. 18. – P. 333–341.
129. *McIntosh K. A.* Detection of Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in naturally infected pigs in a farrow-to-finish barn / K. A. McIntosh, J. C. Harding, J. A. Ellis & G. D. Appleyard // *Can J. Vet Res.* – 2006. Vol. – 70. – P. 58–61.
130. *McNair I.* Interlaboratory testing of porcine sera for antibodies to porcine circovirus type 2 / I. McNair, M. Marshall, F. McNeilly [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 2004. – Vol. 16. – P. 164–166.
131. *Ellis J.* Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets / J. Ellis, S. Krakowka, M. Lairmore [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 1999. – Vol. 11. – P. 3–14.
132. *Kawashima K.* Effects of dexamethasone on the pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection in piglets / K. Kawashima, H. Tsunemitsu, R. Horino [et al.] // *J. Comp Pathol* 2003. – Vol. 129. – P. 294–302.
133. *McIntosh K. A.* Nested polymerase chain reaction detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen with sperm morphological

- analysis from naturally infected boars / K. A. McIntosh, J. C. Harding, S. Parker [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 2006. – Vol. 18. – P. 380–384.
134. *Lainson F. A.* Typing of *Pasteurella multocida* isolated from pigs with and without porcine dermatitis and nephropathy syndrome / F. A. Lain-son, K. D. Aitchison, W. Donachie, J. R. Thomson // *J. Clin Microbiol.* – 2002. – Vol. 40. – P. 588–593.
135. *Liu C.* Development of an ELISA based on the baculovirus-expressed capsid protein of porcine circovirus type 2 as antigen / C. Liu, T. Ihara, T. Nunoya, S. Ueda // *J. Vet Med Sci.* – 2004. – Vol. 66. – P. 237–242.
136. *Rodriguez-Arrioja G.M.* Aujeszky's disease virus infection concurrent with post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs / G. M. Rodriguez-Arrioja, J. Segale rs, C. Rosell [et al.] // *Vet Rec.* – 1999. – Vol. 144. – P. 152–153.
137. *Allan G. M.* A sequential study of experimental infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus: immunostaining of cryostat sections and virus isolation / G. M. Allan, F. McNeilly, B. M. Meehan [et al.] // *J. Vet Med B.* – 2000. – Vol. – 47. – P. 81–94.
138. *de Boisse son C.* Molecular characterization of Porcine circovirus type 2 isolates from post-weaning multisystemic wasting syndrome-affect-ed and non-affected pigs / C. de Boisse son, V. Beven, L. Bigarre, R. Thiery, N. Rose, E. Eveno, F. Madec & A. Jestin // *J. Gen Virol.* – 2004. – Vol. 85. – P. 293–304.
139. *Opriessnig T.* Porcine circovirus type 2 infection decreases the effi-cacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine / T. Opriessnig, N. E. McKeown, K. L. Harmon [et al.] // *Clin Vaccine Immunol.* – 2006. – Vol. 13. – P. 923–929.
140. *Gibbs M. J.* Evidence that a plant virus switched hosts to infect a vertebrate and then recombined with a vertebrate-infecting virus / M. J. Gibbs, G. F. Weiller // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 8022–8027.
141. *Mateusen B.* Susceptibility of pig embryos to porcine circovirus type 2 infection / B. Mateusen, R. E. Sanchez, A. Van Soom, P. Meerts, D. G. D. Maes & H. J. Nauwynck // *Theriogenology.* – 2004. – Vol. 61. – P. 91–101.
142. *Csank T.* Prevalence of porcine circovirus 2 infection in pig popula-tion in Slovakia / T. Csank, J. Pistl, J. Polláková, E. Holoda, M. Har-van // *Acta Virol.* – 2011. – Vol. 55. – N 3. – P. 267–71.

143. *DeLay J.* Porcine circovirus type 2-associated disease is increasing / J. DeLay, B. McEwen, S. Carman, T. van Dreumel, J. Fairles // *AHL Newsletter*. – 2005. – Vol. – P. 9–22.
144. *Drolet R.* Detection rates of porcine ve and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, and swine influenza rcine proliferative and necrotizing pneumonia / R. Drolet, R. Larochelle, M. Morin, B. Delisle, R. Magar // *Vet.Pathol*. – 2003. – V.40. – P. 143–148.
145. *Ellis J. A.* Reproduction of lesions of post-weaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets / J. A. Ellis, M. Lairmore, S. Krakowka, A. Bratanich, D. M. Haines, E. G. Clark, G. Allan, C. Konoby, L. Hassard, B. Meehan, J. Harding, S. Kennedy, F. McNeilly, K. Martin // *J. Vet Diagn Invest*. – 1999. – Vol. 11. – P. 3–14.
146. *Sanchez REJr.* Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation / REJr. Sanchez, H. J. Nauwynck F. McNeilly [et al.] // *Vet Microbiol*. – 2001. – Vol. 83. – P. 169–176.
147. *Shibata I.* PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases / I. Shibata, Y. Okuda, S. Yazawa [et al.] // *J. Vet Med Sci*. – 2003. – Vol. 65. – P. 405–408.
148. *Allan G. M.* Neonatal vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae* and post-wean- ing multisystemic wasting syndrome: a field trial / G. M. Allan, F. McNeilly, I. McNair [et al.] // *Pig J*. – 2001. – Vol. 48. – P. 34– 41.
149. *Карташов С. Н.* Морфофункциональная характеристика лимфатических узлов поросят при цирковиральной инфекции / [С. Н. Карташов, А. М. Ермаков и др.] // *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. – 2009. – № 2. – С. 13–17.
150. *Allan G. M.* Experimental reproduction of severe wasting disease by coinfection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus / G. M. Allan, S. Kennedy, F. McNeilly, J. C. Foster, J. A. Ellis, S. J. Kra-kowka, B. M. Meehan, and B. M. Adair // *J. Comp. Pathol*. – 1999. – Vol. 121. – P. 1–11.
151. *Busch M. E.* Risk factors for each necrosis in growing-finishing pigs / M. E. Busch, E. O. Nielsen, A. G. Hassing, H. Wachmann // *Proceed-ings IPVS congress, Ames*. – 2002. – P. 345.
152. *Choi C.* Distribution of porcine parvovirus in porcine circovirus 2-infected pigs with postweaning multi- systemic wasting syndrome as

- shown by in-situ hybridiza- tion / C. Choi, C. Chae // J. Comp Pathol. – 2000. – Vol. 123. – P. 302–305.
153. *Meehan B. M.* Isolation and characterization of porcine circovirus 2 from cases of sow abortion and porcine dermatitis and nephropathy syndrome / B. M. Meehan, F. McNeilly, I. McNair, I. Walker, J. A. El-lis, S. Krakowka & G. M. Allan // Arch Virol. – 2001. – Vol. 146. – P. 835–842.
154. *Allan, G. M.* Immunostimulation, PCV-2 and PMWS / G. M. Allan, F. McNeilly, S. Kennedy, B. Meehan, J. Ellis and S. Krakowka // Vet. Rec. – 2000. – Vol. 147. – P. 170–171.
155. *Kim J.* Differentiation of porcine circovirus 1 and 2 in formalin-fixed, paraffin-wax-embedded tissues from pigs with postweaning multisys-temic wasting syndrome by in-situ hybridisation / J. Kim, C. Chae // Res Vet Sci. – 2001. – Vol. 70. – P. 265–269.
156. *Kim J.* Optimal enhancement of in situ hybridization for the detection of porcine circovirus 2 in formalin-fixed, paraffin-wax-embedded tis-sues using a com- bined pretreatment of thermocycler and proteinase K / J. Kim, C. Chae // Res Vet Sci. – 2003. – Vol. 74. – P. 235–240.
157. *Johnson C. S.* Experimental in utero inoculation of late-term swine fe-tuses with porcine circovirus type 2 / C. S. Johnson, H. S. Joo, K. Direk-sin [et al.] // J. Vet Diagn Invest. – 2002. – Vol. 14. – P. 507–512.
158. *Yu S.* Development of a reverse transcription-PCR assay to detect por-cine circovirus type 2 transcription as a measure of replication / S. Yu, S. Carpenter, T. Opriessnig [et al.] // J. Virol Methods. – 2005. – Vol. 123. – P. 109–112.
159. *Opriessnig T.* Evidence of breed-dependent differences in suscep-tibility to porcine circovirus type-2-associated disease and lesions / T. Opriessnig, M. Fenaux, P. Thomas [et al.] // Vet Pathol. – 2006. – Vol. 4. – P. 281–293.
160. *Allan G.* Reproduction of postweaning multisystemic wasting syn-drome in pigs experimentally inoculated with a Swedish porcine circovirus 2 isolate / G. Allan, F. McNeilly, B. Meehan [et al.] // J. Vet Diagn Invest. – 2003. – Vol. 15. – P. 553–560.
161. *Benfield D. A.* Porcine reproductive and respiratory syndrome / D. A. Benfield, J. E. Collins, A. L. Jenny, T. J. Loula // Disease of swine. – 7th ed.-Ames. Iowa. – 1992. – P.756–762.
162. *Boisseson C.* Molecular characterization of porcine circovirus type 2 isolates from post-weaning multisystemic wasting syndrome af-

- fected and non-affected pigs / C. Boisseson, V. de Beven, L. Bigarre, R. Thiery, N. Rose, E. Eveno, F. Madec, A. Jestin // *J. Gen Virol.* – 2004. – Vol. 85. – N 2. – P. 293–304.
163. Cottrell T.S. A study investigating epidemiological risk factors for porcine circovirus type II in Ontario / T. S. Cottrell, R. M. Friendship, C. E. Dewey, G. Jeseophson, G. Allan, I. Walka, F. Mc Neilly // *The Pig Journal.* – 1999. – Vol. 44. – P. 10–17.
164. Grierson S. S. Genome sequence analysis of 10 Dutch porcine circovirus type 2 (PCV-2) isolates from a PMWS case-control study / S. S. Grierson, D. P. King, G. J. Wellenberg, M. Banks // *Res Vet Sci.* – 2004. – Vol. 77. – N. – 3. – P. 265–268.
165. O'Connor B. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit / B. O'Connor, H. Gauvreau, K. West [et al.] // *Can Vet J.* – 2001. – Vol. 42. – P. 551–553.
166. 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.
167. Pogranichniy R. M. Casecontrol study on the association of porcine circo-virus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multi- sys-temic wasting syndrome / R. M. Pogranichnyy, K. J. Yoon, P. A. Harms [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 2002. – Vol. 14. – P. 449–456.
168. Rose N. Effet de la genetique pietrain sur l'expression clinique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP): etude dans 4 ele-vages naisseurs-engraisseurs / N. Rose, A. Abherve-Gueguen, G. Le Diguerher [et al.] // *Journées Recherche en Porcine France.* – 2004. – Vol. 36. – P. 339–344.
169. Magar R. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study / R. Magar, R. Larochelle, S. Thibault, and L. Lamontagne // *J. Comp. Pathol.* – 2000. – Vol. 123. – P. 258–269.
170. Grierson S. S. Detection and genetic typing of type 2 porcine circovi-ruses in archived pig tissues from the UK / S. S. Grierson, D. P. King, T. Sandvik [et al.] // *Arch Virol.* – 2004. – Vol. 149. – P. 1171–1183.
171. Ladekjaer-Mikkelsen A. S. Transplacental infection with PCV-2 asso-ciated with reproductive failure in a gilt / A. S. Ladekjaer-Mikkelsen, J. Nielsen, T. Storgaard [et al.] // *Vet Rec.* – 2001. – Vol. 148. – P. 759–760.

172. *Wellenberg G. J.* Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study / G. J. Wellenberg, N. Stockhofe-Zur-wieden, M. F. De Jong [et al.] // *Vet Microbiol.* – 2004. – Vol. 99. – P. 203–214.
173. *Malogolovkin A. S.* Causes of detection PCV-2 infection in Russian swine fields Laboratory diagnostics today and its future challenges. Dedicated to the 90th anniversary Mull M.E. Porcine Circovirus Associated Disease (PCV2AD) / A. S. Malogolovkin, G. A. Nadtochey, D. V. Kolbasov [Електронний ресурс]. – Режим доступа: www.yor-kanimalhosp.com.
174. *Yang J. S.* Detection of porcine circovirus type 2 in feces of pigs with or without enteric disease by polymerase chain reaction / J. S. Yang, D. S. Song, S. Y. Kim [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 2003. – Vol. 15. – P. 369–373.
175. *Mahe D.* Differential recognition of ORF2 protein from type 1 and type 2 porcine circoviruses and identification of immunorelevant epitopes / D. Mahe, P. Blanchard, C. Truong, C. Arnauld, P. Le Cann, R. Cariolet, F. Madec, E. Albina & A. Jestin // *J. Gen Virol.* – 2000. – Vol. 81. – P. 1815–1824.
176. *Liu J.* The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo / J. Liu, I. Chen, Q. Du, H. Chua & J. Kwang // *J. Virol.* – 2006. – Vol. 80. – P. 5065–5073.
177. *Krakovka S.* Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of post-weaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus / S. Krakowka, J. A. Ellis, B. Meehan [et al.] // *Vet Pathol.* – 2000. – Vol. 37. – P. 254–263.
178. *Pallares F. J.* Porcine circovirus type 2 (PCV-2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) / F. J. Pallares, P. G. Halbur, T. Opriessnig [et al.] // *J. Vet Diagn Invest.* – 2002. – Vol. 14. – P. 515–519.
179. *Hui-Gang Shen.* Protective immunity against porcine circovirus 2 by vaccination with ORF2-based DNA and subunit vaccines in mice / Shen Hui-Gang, Zhou Ji-Yong, Huang Zhen-Yu, Guo Jun-Qing, Xing Gang, He Jia-Ling, Yan Yan and Gong Li-Yang // *Journal of General Virology.* – 2008. – Vol. 89. – P. 1857–1865.
180. *Sirinarumitr T.* Double in situ hybridization for simultaneous detec-

- tion of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and porcine circovirus (PCV) / T. Sirinarumitr, S. D. Sorden, I. Morozov, P. S. Paul // J. Vet Diagn Invest. – 2001. – Vol. 13. – P. 68–71.
181. *West K. H.* Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2 / K. H. West, J. M. Bystrom, C. Wojnarowicz [et al.] // J. Vet Diagn Invest. – 1999. – Vol. 11. – P. 530–532.
182. *Walker I. W.* Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2 / I. W. Walker, C. A. Konoby, V. A. Jewhurst [et al.] // J. Vet Diagn Invest. – 2000. – Vol. 12. – P. 400–405.
183. *Fenaux M.* Cloned genomic DNA of type 2 porcine circovirus is infectious when injected directly into the liver and lymph nodes of pigs: characterization of clinical disease, virus distribution, and pathologic lesions / M. Fenaux, P. G. Halbur, G. Haqshenas [et al.] // J. Virol 2002. – Vol. –76 P. 541–551.
184. *Grasland B.* Re- production of PMWS in immunostimulated SPF pig-lets transfected with infectious cloned genomic DNA of type 2 porcine circovirus / B. Grasland, C. Loizel, P. Blanchard [et al.] // Vet Res. – 2005. – Vol. 36. – P. 685–697.
185. *Mikami O.* Nonsuppurative myocarditis caused by porcine circovirus type 2 in a weak-born piglet / O. Mikami, H. Nakajima, K. Kawashima [et al.] // J. Vet Med Sci. – 2005. – Vol. 67. – P. 735–738.
186. *Niagro F. D.* Beak and feather disease virus and porcine circovirus genomes: intermediates between the geminiviruses and plant circoviruses / F. D. Niagro, A. N. Forsthoefel, R. P. Lawther [et al.] // Arch Virol. – 1998. – Vol. – 143. – P. 1723–1744.
187. *Tischer I.* Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence / I. Tischer, D. Peters, R. Rasch, S. Pociuli // Arch Virol. – 1987. – Vol. 96. – P. 39–57.
188. *Quardani M.* Multiplex PCR for detection and typing of porcine circoviruses / M. Quardani, L. Wilson, R. Jette [et al.] // J. Clin Microbiol. – 1999. – Vol. 37. – P. 3917–3924.
189. *Rose N.* Risk factors for porcine Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds / N. Rose, G. Larour, G. Le Diguerher, E. Eveno, J. P. Jolly, P. Blanchard, A. Oger, M. Le dimna, A. Jestin, F. Madec // Prev. Vet. Med. – 2003. – Vol. 61. – P. 209–225.

190. *Rosell C.* Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome / C. Rosell, J. Segale r s, J.A. Ramos-Vara [et al.] // *Vet Rec.* – 2000. – Vol. 146. – P. 40–43.
191. *Mankertz A.* New reporter gene-based replication assay reveals exchange- ability of replication factors of porcine circovirus types 1 and 2 / A. Mankertz, B. Mueller, T. Steinfeldt, C. Schmitt & T. Finster-busch // *J. Virol.* – 2003. – Vol. 77. – P. 9885–9893.
192. *Balasch M.* Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with postweaning multisystemic wasting syn-drome / M. Balasch, J. Segal'is, C. Rosell, M. Domingo, A. Mankertz, A. Urniza and J. Plana-Dur'on // *J. Comp. Pathol.* – 1999. – Vol. 121. – P. 139–148.
193. *Blanchard, P.* Protection of swine against post-weaning multisystemi wasting syndrome (PMWS) by porcine circovirus type 2 (PCV2) pro-teín / P. Blanchard, D. Mahn, R. Cariolet [et al.] // *Vaccine.* – 2003. – N. 21. – P. 4565–4575.
194. *Chae, C.* Commercial porcine circovirus type 2 vaccines: Efficacy and clinical application / C. Chae // *Vet. J.* – 2012. – N. 194. – P. 151–157.
195. *Beach, N. M.* Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2) / N. M. Beach, X. J. Meng // *Virus Res.* – 2012. –N. 164. – P. 33–42.
196. *Fort, M.* Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins / M. Fort, M. Sibila, J. Segales [et al.] // *Vaccine.* – 2008. – N. 26. – P. 1063–1071.
197. *Xiao, C.T.* Complete genome sequence of a novel porcine circovirus type 2b variant present in cases of vaccine failures in the US / C.T. Xiao, P. Halbur, T. Opriessnig // *J. Virol.* – 2012. – N. 86. – P. 12469.
198. *Орлянкин, Б.Г.* Перспективы использования в ветеринарии ДНК-вакцин / Б. Г. Орлянкин // *Состояние, проблемы и перспекти-вы развития ветеринарной науки в России.* – М.,1999. – Т. I. – С. 265–268.
199. *Beach, N. M.* Novel chimeric porcine circovirus (PCV) with the capsid gene of the emerging PCV2b subtype cloned in the genomic backbone of the nonpathogenic PCV-1 is attenuated in vivo and induce protec-tive and cross-protective immunity against PCV2b and PCV2a sub-

- types in pigs / N. M. Beach, S. Ramamoorthy, T. Opriessnig [et al.] // *Vaccine*. – 2010. – N. 29. – P. 221–232.
200. *Aravindaram, K.* Protective immunity against porcine circovirus 2 in mice induced by a genebased combination vaccination / K. Aravindaram, T.Y. Kuo, C.W. Lan [et al.] // *J. Gene Med.* – 2009. – N. 11. – P. 288–301.
201. *Fenaux, M.* Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV2) and non-pathogenic PCV1 in weanling pigs / M. Fenaux, T. Opriessnig, P. Halbur [et al.] // *J. Virology*. – 2003. – N. 77. – P. 11232–11243.
202. *Song, Y.* Generation and immunogenicity of recombinant pseudorabies virus expressing cap protein of porcine circovirus type 2 / Y. Song, M. Jin, S. hang [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2007. – N. 119. – P. 97–104.
203. *Huang, L.* Construction and biological characterization of recombinant porcine circovirus type 2 expressing the V5 epitope tag / L. Huang, Y. Lu, Y. Wei [et al.] // *Virus. Res.* – 2011. – N. 161. – P. 115–123.
204. *Ladinig, A.* Use of new Bacucheck ELISA to differentiate between PCV-vaccinated and unvaccinated pigs of different ages / A. Ladinig, S. Von Rueden, S. Ritzmann [et al.] // *Proceedings of International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases, Barcelona, Spain, June 12–15, 2011.* – P. 122.
205. *Раев, С.А.* Получение рекомбинантного капсидного белка цирковируса свиней второго типа (генотип 2в) в бакуловиральной системе и его использование для изготовления вакцины / С.А. Раев, К.П. Алексеев, Е.В. Шемельков и др. // *РВЖ.СХЖ*. – 2012. – № 3. – С. 17–19.
206. *Bucarey, S.A.* The optimized capsid gene of porcine circovirus type 2 expressed in yeast forms virus-like particles and elicits antibody responses in mice fed with recombinant yeast extracts / S. A. Bucarey, J. Noriega, P. Reyes [et al.] // *Vaccine*. – 2009. – N. 27. – P. 5781–5790.
207. *Perez-Martin, E.* Immunity conferred by an experimental vaccine based on the recombinant PCV2 Cap protein expressed in *Trichoplusia ni* – larvae / E. Perez-Martin, G. Gomez-Sebastian, J. Argilaguet [et al.] // *Vaccine*. – 2010. – N. 28. – P. 2340–2349.
208. *Fort, M.* Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and

- geographic origins / M. Fort, M. Sibila, J. Segales et al. // *Vaccine*. – 2008. – N. 26. – P. 1063–1071.
209. *Opriessnig, T.* Comparison of efficacy of commercial one dose and two dose PCV2 vaccines using a mixed PRRSV-PCV2-SIV clinical infection model 2-3 month post vaccination / T. Opriessnig, A.R Patterson., D.M. Madson et al. // *Vaccine*. – 2009. – N. 27. – P. 1002–1007.
210. *Madson, D. M.* Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination / D.M. Madson, T. Opriessnig // *Anim. Health Res. Rev.* – 2011. – N. 12. – P. 47–65.
211. *Opriessnig, T.* Comparison of the effectiveness of passive (dam) versus active (piglet) immunization against porcine circovirus type 2 (PCV2) and impact of passively derived PCV2 vaccine induced immunity on vaccination / Opriessnig, A. R. Patterson, D. M. Madson [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2010. – N. 42. – P. 177–183.
212. *Opriessnig, T.* Influence of maternal antibodies on efficacy porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination to protect pigs from experimental infection with PCV2 / T. Opriessnig, A.R. Patterson, J. Elsener [et al.] // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2008. – N. 15. – P. 397–401.
213. *Segales, J.* A genetically engineered chimeric vaccine against porcine Circovirus type 2 (PCV2) improves clinical, pathological and virological outcomes in postweaning multisystemic wasting syndrome affected farms / J. Segales, A. Urniza, A. Alegre [et al.] // *Vaccine*. – 2009. – N. 27. – P. 7313–7321.
214. *Загорельский, В.Н.* Отечественная вакцина «ВЕРРЕС-ЦИРКО» высокоэффективна / В. Н. Загорельский, Б. Г. Орлянкин, А. М. Мишин, А. М. Божко // *Свиноводство*. – 2013. – №1. – С. 51–52.
215. *Lyo, K.* Comparative efficacy of three commercial PCV2 vaccines in conventionally reared pigs / K. Lyoo, H. Joo, B. Caldwell [et al.] // *Vet. J.* – 2011. – N. 189. – P. 58–62.
216. *Pejsak, Z.* Efficacy of different protocols of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs / Z. Pejsak, K. Podgorska, M. Truszczynski // *J. Comparative Immunol. Microbiol. and Infect. Dis.* – 2010. – N. 33(6), 5.
217. *Allan, G.M.* Porcine circovirus: a review / G. M. Allan, J. A. Ellis // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2000. – N. 12. – P. 3–14.

218. *Kekarainen, T.* Immune responses and vaccine induced immunity against porcine circovirus type 2 / T. Kekarainen, K. McCullough, M. Fort [et al.] // *Vet. Immunol. and Immunopathol.* – 2010. – N. 136. – P. 185–193.
219. *Shen, H.* High prevalence of porcine circovirus viremia newborn pig-lets in five clinically normal swine breeding herds in North America / H. Shen, C. Wang, D.M. Madson [et al.] // *Prev.Vet. Med.* – 2010. – N. 97. – P. 228–236.
220. *Fachinger, V.* The effect of vaccination against porcine circovirus in pigs suffering from porcine respiratory disease complex / V. Fachinger, R. Bischoff, S. Jedidia [et al.] // *Vaccine.* – 2008. – N. 26. – P. 1488–1499.
221. *Shen, H.* Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV) / H. Shen, N. Beach, Y. Huang [et al.] // *Vaccine.* – 2010. – N. 28. – P. 5960–5966.
222. *Гриневич А. Ю.* Определение иммунных компонентов в крови он-кологических больных / А. Ю. Гриневич, А. Н. Алферов // *Лабо-раторное дело.* – 1981. – № 8. – С. 493–496.
223. *Косенко М. В.* Імунологічний контроль ветеринарних лікарських засобів: метод. рекомендації / [М. В. Косенко, І. Я. Коцюмбас, Ю. С. Клок та ін.]: затв. ДДВМ МАП України, грудень 2001 р. – Видання офіц. – Львів, **2002.** – 37 с.
224. *Андронати С. А.* Пероральный индуктор эндогенного интерферо-на «Амиксин» и его аналоги // С. А. Андронати, Л. А. Литвинова, Н. Я. Головенко // *Журн. АМН Украины.* – 1999. – Т. 5, № 1. – С.53–56.
225. *Ершов Ф. И.* Интерферон и его индукторы /Ф. И. Ершов. – М.: Медицина, 1980. – 176 с.

СИТЮК Микола Петрович
БАЙДАЛЮК Вікторія Анатоліївна
НИЧИК Сергій Анатолійович
РОЗУМНЮК Андрій Вікторович
ФУРДА Ірина Леонідівна
ГАЛКА Ігор Васильович
ШАПОШНИК Володимир Миколайович

ЦИРКОВІРУСНІ інфекції

Редактор *І. М. Баланчук*
Комп'ютерна верстка і дизайн обкладинки *І. Г. Хорошого*
Коректори: *Л. П. Захарченко, А. О. Гмир*

Підписано до друку 00.00.2017 р. Формат 60×84 ¹/₁₆.
Папір офс. Гарнітура «Таймс». Друк офс.
Ум. друк. арк. 7,44. Обл.-вид. арк. 8,3.
Наклад 300 пр. Зам. № 00-0.

Державне видавництво «Аграрна наука» НААН
Свідоцтво про державну реєстрацію № 371868 від 13.12.2010 р.
вул. Васильківська, 37, Київ, 03022
Тел. (044) 257-85-27
e-mail: agrarnanauka@ukr.net

Видання віддруковано у друкарні ТОВ «Задруга»
вул. Фрунзе, 86, Київ, 04080
Тел. (044) 239-19-77
e-mail: 2010zadruga@gmail.com

