

New data about swine circoviruses

Truszczyński M., Pejsak Z., Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy

This article aims at the presentation of new data on the growing knowledge on the porcine circoviruses. Taxonomy and basic properties of these agents are shortly presented. This refers to the non-pathogenic porcine circovirus 1 (PCV1), and to the pathogenic porcine circovirus 2 (PCV2). Within the PCV2 species, genotypes: PCV2a, PCV2b, PCV2c and PCV2d-1 and PCV2d-2 are characterized. The PCV2 genotypes differ in virulence. They are etiological agents of the postweaning multisystemic wasting syndrome, called also PCV2-systemic disease; the porcine dermatitis and nephropathy syndrome; the porcine respiratory disease complex and the porcine reproductive disease. The subclinical and clinical forms of PCV2 infection are discussed, indicating that the majority of pigs are symptomless carriers and only some percentage of animals is developing the clinical signs. The immunological mechanisms underlying the carriership and the productive forms of the PCV2 infection in the pathogenesis of the clinical disease are analyzed. Information concerning efficacy of available vaccines against porcine circovirus diseases are also presented.

Keywords: PCV1, PCV2, pathogenesis of infection, swine, diseases, vaccines.

Cirkowirusy świń (porcine circoviruses-PCVs) należą do rodzaju *Circovirus*, rodziny *Circoviridae* (1). Pierwszym wykrytym w 1974 r., występującym u świń, cirkowirusem był niechorobotwórczy wirus, wykazany w komórkach linii ciągłej nerki świni, PK15 (2). Określony został jako PCV1, czyli porcine circovirus 1. Opisanym w latach 90. chorobotwórczym dla świń cirkowirusem okazał się cirkowirus, nazwany PCV2 (3).

Cirkowirusy nie posiadają otoczki, a średnica ich wynosi 12–23 nm (4).

Nowe dane na temat cirkowirusów świń

Marian Truszczyński, Zygmunt Pejsak

z Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Ich genom, stanowiąc kolisty (cyrkularny, stąd nazwa), kowalentnie zamknięty, jednoniciowy DNA, w przypadku gatunku PCV1 zawiera 1759, a w przypadku PCV2 1768 nukleotydów (5).

Porównanie szczepów PCV2 izolowanych z licznych miejsc na całym świecie wykazało bardzo zbliżone dane odnośnie do sekwencji nukleotydów, wynoszące ponad 93% zgodności (6).

Jak wynikało z retrospektywnego badania zachowanych z wcześniejszych lat próbek od świń, PCV2 jako czynnik chorobowy wykazywano od 1969 r. w Belgii (cyt. wg 7), od 1970 r. w Wielkiej Brytanii (8), od 1973 r. w Irlandii (9), od 1985 w Kanadzie (10) i od 1985 r. w Hiszpanii (cyt. wg 7). PCV2 od lat stale występuje w USA (7).

Wywołane przez PCV2 choroby świń

Zakażenie powodowane przez PCV2 łączy się etiologicznie z: poodradzeniowym wieloukładowym wyniszczającym zespołem chorobowym (postweaning multisystemic wasting syndrome – PMWS), zespołem skórno-nerkowym świń (porcine dermatitis and nephropathy syndrome – PDNS), kompleksem chorób układu oddechowego świń (porcine respiratory disease complex – PRDC) i zaburzeniami w rozrodzie (porcine reproductive disease – PRD) charakteryzującymi się obumieraniem płodów i roniceniami (7, 11).

Zakażeniom PCV2 często towarzyszą bakterie lub wirusy, będące pierwotnie komensalami lub patogenami o niskiego

stopnia zjadliwości, które wspólnie wywołują wieloczynnikowe choroby układu oddechowego lub przewodu pokarmowego. Patogenezie tego rodzaju zespołów chorobowych sprzyjają niskiego stopnia odporność wrodzona i niewłaściwe warunki chowu świń.

Od kilkunastu lat PCV2 uważany jest w USA jako jeden ze szczególnie ważnych patogenów świń (7). To samo, chociaż może w mniejszym stopniu, dotyczy to innych państw. Przypadki chorobowe przekazywane w ciągu kilkunastu ostatnich lat do Weterynaryjnego Laboratorium Diagnostycznego Uniwersytetu Stanowego Iowa, USA, wskazują na wzrost w tym kraju udziału PCV2 w zachorowaniach u świń. Kekarainen (12) i Opriessing (13) potwierdziły na Międzynarodowym Sympozjum w Kyoto, w czerwcu 2015 r., że PCV2 wywołuje duże straty w produkcji świń w USA, co w znacznym stopniu odnosi się również do innych państw na świecie. Wśród zespołu cirkowirusowych chorób świń najważniejszy jest zespół PMWS, nazywany przez Segalésa i wsp. (14) oraz Kekarainen (12) układową chorobą świń wywołaną przez PCV2 (PCV2 – systemic disease – PCV2-SD; 14).

Postacie podkliniczne i kliniczne chorób cirkowirusowych

Mimo że większość świń ulega zakażeniu wirusem PCV2, to znacznie mniejszy ich odsetek wykazuje objawy kliniczne. Oznacza to, że oprócz niewątpliwego znaczenia PCV2 w wywoływaniu choroby

dla ujawnienia objawów chorobowych niezbędne są wspomniane koinfekcje innymi czynnikami zakaźnymi (12). Kiedy one nie występują, to wyłączna obecność w organizmie świni PCV2 może nie wystarczać do rozwinięcia się objawów klinicznych. Aktualnie straty ekonomiczne mogą być obniżane przy zastosowaniu dostępnych w handlu wysoce skutecznych szczepionek przeciw PCVD, co znajduje zastosowanie w większości krajów. Skuteczność wakcynacji potwierdza rolę etiologiczną PCV2. Również poprawa warunków chowu odgrywa istotną rolę w ograniczaniu negatywnych skutków zakażenia, wskazując na warunkową chorobotwórczość tego drobnoustroju oraz istnienie szczepów PCV2 o niskiej zjadliwości, chorobotwórczych wtedy, kiedy obniżony jest przez niekorzystne warunki poziom wrodzonej odporności świni.

Obraz zakażenia w dużym stopniu zależy od typu i skuteczności przeciwzakaźnej odpowiedzi immunologicznej. Zwierzęta niewykazujące objawów klinicznych, mimo patogenności szczepu PCV2, rozwijają po zakażeniu znacznego stopnia humoralne i komórkowe odpowiadające obronne, które prowadzą do usunięcia wirusa z krwi zakażonego zwierzęcia. Proces ten określane jest jako oczyszczanie (clearance). Świnie z objawami klinicznymi cechują się po zakażeniu PCV2 spadkiem liczby limfocytów, zwiększoną liczbą komórek linii monocytu/makrofagi i zmianami w ekspresji cytokin (15). W efekcie rozwija się immunosupresja i niemożność likwidacji PCV2. W związku z tym wrażliwość na zakażenia wywołane przez wspomniane wcześniej drobnoustroje oportunistyczne (czyli warunkowo chorobotwórcze), które bez obecności PCV2 nie wyzwalają objawów chorobowych (16).

W celu wyjaśnienia przyczyny różnic między zakażeniem bezobjawowym a tym, któremu towarzyszą objawy chorobowe, podjęto badania odpowiedzi odporności wrodzonej przeciw PCV2, z uwzględnieniem metod *in vitro*. Jak wynika z wspomnianej prezentacji Kekarainen (12), PCV2 zdolny jest wpływać na sekrecję cytokin i hamować sygnały ostrzegawcze o niebezpieczeństwie ze strony plazmocytoidalnych komórek dendrytycznych. PCV2 może też efektywnie obniżać sekrecję α -interferonu (IFN- α) i równocześnie zwiększać sekrecję interleukiny 10 (IL-10) przez monocyty. Natomiast pojawienie się komórek wydzielających IFN- γ łączy się z redukcją miana wirusa, wskazując na znaczenie komórkowej odporności w zwalczaniu zakażenia (12). Wykazano, że wirusowe DNA PCV2 jest głównym immunomodulatorem komórek układu odpornościowego świni (17, 18, 19).

Swoista humoralna odpowiedź, mierzona poziomem przeciwciał neutralizujących PCV2, pojawia się po około 3 tygodniach od zakażenia. W zasadzie stanowi ona sprawną ochronę przed wystąpieniem objawów klinicznych.

Genotypy PCV2

Wśród szczepów PCV2 rozróżniono genotypy PCV2a i PCV2b (20). Wykazano też występujące między nimi różnice antygenowe (21). W wyniku coraz bardziej powszechnego stosowania testów biologii molekularnej w odniesieniu do izolowanych z przypadków chorobowych szczepów PCV2 wykryto obok PCV2a i PCV2b, dodatkowo PCV2c i PCV2d (22, 23, 24). Do 2000 r. PCV2a był najczęściej izolowanym z przypadków chorobowych u świń genotypem, po czym w skali globalnej częściej wykazywano PCV2b. W przechowywanych w archiwum próbkach w Danii zidentyfikowano PCV2c (25). Ostatnio znaczenie zyskał PCV2d podejrzewany o przełamywanie odporności po szczepionkach niezawierających jako immunogenu tego genotypu (26), co jednak nie zostało potwierdzone.

Dodatkowo stwierdzono, że szczepy PCV2d dzielą się na dwie podgrupy PCV2d-1 i PCV2d-2. Dodać należy, że genotyp PCV2d izolowany jest coraz częściej w Azji i USA (24). W wykonanych w Chinach badaniach szczep PCV2d okazał się bardziej patogenny niż PCV2a i PCV2b, co jednak nie zostało potwierdzone w badaniach eksperymentalnych przez badaczy z USA (27).

Szczepionki

Opriessnig (13) w prezentowanym w 2015 r. w Kyoto wystąpieniu informowała, że w wykonanych w USA badaniach na bezsiarowych prosiętach uzyskanych przy użyciu cesarskiego cięcia genotyp PCV2d wykazał wysoką zjadliwość, powodując 71,4% padnięć zakażonych nim nieszczepionych zwierząt, współzakażonych wirusem zespołu rozrodzco-oddechowego (PRRSV). Genotyp PCV2d był wysoce chorobotwórczy dla prosiąt (28). Okazało się też, że świnię szczepioną szczepionką z genotypem PCV2a były odporne na zakażenie genotypem PCV2d (28). W innej pracy Opriessnig i wsp. (29) wykazali, że komercyjna szczepionka PCV2a zapobiegała zakażeniom wywołanym przez PCV2b.

Opriessnig stwierdziła (13), że powszechnie dostępne szczepionki komercyjne z immunogenem PCV2a są skuteczne przeciw zakażeniom wywołanym przez genotypy PCV2d i PCV2b dodając, że kiedy to nie ma miejsca i następują przełamania odporności, to należy łączyć

je z błędami w strategii lub technice zastosowanej w wakcynacji.

Historycznie ujmując, szczepionki komercyjne, przeciw zakażeniom PCV2, pojawiły się na światowym rynku od 2004 r. (7, 15). Pierwszą szczepionką był preparat o nazwie Circovac® (Merial), inaktywowany i z adiuwantem olejowym, zawierający PCV2, do stosowania u loch i pierwiastek 2–4 tygodnie przed porodem. Inne dostępne obecnie komercyjne biopreparaty stanowią szczepionki przeznaczone dla prosiąt 2–4-tygodniowych. Wśród nich jest Ingelvac CircoFlex® (Boehringer Ingelheim), szczepionka podawana jednorazowo, oraz Porcilis PCV/Circumvent® (Intervet – Schering Plough), stosowana w dwóch iniekcjach. Oba preparaty są szczepionkami podjednostkowymi. Kolejną używaną w skali międzynarodowej szczepionką jest Suvaxyn PCV2 One Dose® (Fort Dodge).

Dane z terenu wykazały, że wymienione szczepionki są skuteczne. Dowodem jest spadek strat wywołanych przez PCV2 i jego genotypowe odmiany u prosiąt i świń szczepionych czynnie lub prosiąt osesków uodpornianych biernie przeciwciałami siary od szczepionych loch (30, 31). Dodatkowo wykazano, że szczepienie szczepionką Circovac® wywierało efekt pozytywny przeciw wywołanym przez PCV2 zaburzeniom w rozrodzie (32).

Ochrona przeciw objawom klinicznym cirkowirusowych chorób świń w większym stopniu opiera się na odporności humoralnej bądź uzyskanej biernie z siarą albo aktywnie w następstwie szczepienia prosiąt i loch, a w mniejszym stopniu na odporności komórkowej (15).

Krajowe doświadczenia terenowe wskazują, że szczepienie wyłącznie loch i tym sposobem indukowanie odporności biernej w większości przypadków nie wystarcza do ochrony warchlaków i tuczników przed klinicznymi skutkami zakażenia PCV2. Uzasadnione jest zatem dodatkowo czynne uodpornianie prosiąt.

Piśmiennictwo

1. Segalés J., Allan G.M., Domingo M.: Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 2005a, 6, 119–142.
2. Tischer I., Rasch R., Tochtermann G.: Characterization of papovavirus- and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl. Bakteriol. Org. A.* 1974, 226, 153–167.
3. Allan G.M., McNeill F., Meehan B.M., Kennedy S., MacKie D.P., Ellis J.A., Clark E. G., Espuna E., Saubi N., Riera P., Bøtner A., Charreyre C.E.: Isolation and characterization of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and North Ireland. *Vet. Microbiol.* 1999b, 66, 115–123.
4. Rodriguez-Carrión C., Segalés J.: Ultrastructural Finding in Lymph Nodes from Pigs Suffering from Naturally Occurring Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome. *Vet. Pathol.* 2009, 46, 729–735.
5. Hamel A.L., Lin L.L., Nayar G.P.S.: Nucleotide Sequence of Porcine Circovirus Associated with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome in Pigs. *J. Virol.* 1998, 72, 5262–5267.
6. Larochelle R., Magar R., D'Allaire S.: Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus

- type 2 (PCV2) strains from cases presenting various clinical conditions. *Virus Res.* 2002, **90**, 101–112.
7. Opriessnig T, Meng Z.J., Halbur P.G.: Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2007, **19**, 591–615.
 8. Grierson S.S., King D.P., Sandvik T., Hicks D., Spencer Y., Drew T.W., Banks M.: Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. *Arch. Virol.* 2004, **149**, 1171–1183.
 9. Walker I.W., Konoby C.A., Jewhurst V.A., McNair I., McNelly F., Meehan B.M., Cottrell L.S., Ellis J.A., Allan G.M.: Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 400–405.
 10. Magar R., Müller P., Larochelle R.: Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2. *Can. J. Vet. Res.* 2000, **64**, 184–186.
 11. Segalés J., Allan G.M., Domingo M.: Porcine Circoviruses. In: Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W.: Diseases of Swine. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA, 2012, 10th Edition, 405–417.
 12. Kekarainen T.: PCV2 Immunology and viral evolution. *Proc. 7th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases*, Kyoto, Japan, 21–24. June 2015, 18.
 13. Opriessnig T.: What is new on PCV2: Diagnostic tools, novel strains and efficacy of current vaccines. *Proc. 7th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases*, Kyoto, Japan, 21–24. June 2015, 19–20.
 14. Segalés J., Kekarainen T., Cortey M.: The natural history of porcine circovirus type 2: From an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Vet. Microbiol.* 2013, **165**, 13–20.
 15. Kekarainen T., McCullough K., Fort M., Fossum C., Segalés J., Allan G.M.: Immune responses and vaccine-induced immunity against Porcine circovirus type 2. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2010, **136**, 185–193.
 16. Segalés J., Allan G.M., Domingo M.: Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 2005, **6**, 119–142.
 17. Kekarainen T., Montoya M., Dominguez J., Mateu E., Segalés J.: Porcine circovirus type 2 (PCV2) viral components immunomodulated recall antigen responses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008, **124**, 41–49.
 18. Kekarainen T., Montoya M., Mateu E., Segalés J.: Porcine circovirus type 2-induced interleukin-10 modulates recall antigen responses. *J. Gen. Virol.* 2008, **89**, 760–765.
 19. Vincent I.E., Balmelli C., Meehan B., Allan G., Summerfield A., McCullough K.C.: Silencing of natural interferon producing cell activation by porcine circovirus type 2 DNA. *Immunology* 2007, **120**, 47–56.
 20. Grau-Roma L., Crisci E., Sibila M., López-Soria S., Nofrarias M., Cortey M., Fraile L., Olvera A., Segalés J.: A proposal on porcine circovirus type 2 (PCV2) genotype definition and their relation with postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) occurrence. *Vet. Microbiol.* 2008, **128**, 23–35.
 21. Shang S.B., Jin Y.L., Jiang X.T., Zhou J.Y., Zhang X., He J.L., Yan Y.: Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine circovirus Type 2. *Mol. Immunol.* 2009, **46**, 327–334.
 22. Segalés J., Olvera A., Grau-Roma L., Charreyre C., Nauwynck H., Larsen L., Dupont K., McCullough K., Ellis J., Krakowka S., Mankertz A., Fredholm M., Fossum C., Timmusk S., Stockhofe-Zurwieden N., Beattie V., Armstrong D., Grassland B., Baekbo P., Allan G.: PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet. Rec.* 2008, **162**, 867–868.
 23. Patterson A.R., Opriessnig T.: Epidemiology and horizontal transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Anim. Health Res. Rev.* 2010, **11**, 217–234.
 24. Xiao C.T., Halbur P.G., Opriessnig T.: Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *J. Gen. Virol.* 2015, **96**, 1830–1841.
 25. Dupont K., Nielsen E.O., Baekbo P., Larsen L.E.: Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Vet. Microbiol.* 2008, **128**, 56–64.
 26. Opriessnig T., Xiao C.T., Gerber P.F., Halbur P.G.: Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the U.S. concurrently infected with PPV2. *Vet. Microbiol.* 2013, **163**, 177–183.
 27. Opriessnig T., Xiao C.T., Gerber P.F., Halbur P.G., Matzinger S.R., Meng X.J.: Mutant XUSA strain of porcine circovirus type 2 (mPCV2) exhibits similar virulence to the classical PCV2a and PCV2b strains in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *J. Gen. Virol.* 2014, **95**, 2495–2503.
 28. Opriessnig T., Gerber P.F., Xiao C.T., Mogler M., Halbur P.G.: A commercial vaccine based on PCV2a and an experimental vaccine based on a variant mPCV2b are both effective in protecting pigs against challenge with a 2013 U.S. variant mPCV2b strain. *Vaccine* 2014, **32**, 230–237.
 29. Opriessnig T., Gerber P.F., Xiao C.T., Halbur P.G., Matzinger S.R., Meng X.J.: Commercial PCV2a-based vaccines are effective in protecting naturally PCV2b-infected finisher pigs against experimental challenge with a 2012 mutant PCV2. *Vaccine* 2014, **32**, 4342–4348.
 30. Fachinger V., Bischoff R., Jedidia S.B., Saalmuller A., Elbers K.: The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine* 2008, **26**, 1488–1499.
 31. Pejsak Z., Podgórska K., Trzuszczynski M., Karbowski P., Stadejek T.: Efficacy of different protocols of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2010, **33**, 1–5.
 32. Villa T.: PCV2 and reproductive performance: facts and figures for the disbelievers. W: Merial Symposium. *18th IPVS*, Durban, South Africa, 2008.