

Choroby świń wywoływane przez cirkowirusy oraz grypa świń w świetle danych 11. Sympozjum Europejskiego Stowarzyszenia Zarządzania Zdrowiem Świń

Hanna Turlewicz-Podbielska, Małgorzata Pomorska-Mól

z Katedry Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Celem artykułu jest przybliżenie najnowszych danych dotyczących chorób świń wywoływanych przez cirkowirusy oraz grypy świń prezentowanych podczas 11. kongresu ESPHM, który odbył się w 2019 r. w Utrechcie. Podczas sesji słuchacze mieli możliwość zapoznania z nowościami, między innymi w zakresie zakażeń cirkowirusowych oraz grypy świń.

Cirkowirus świń typu 2 w świetle najnowszych doniesień

Cirkowirus świń typu 2 (PCV2) jest ważnym ekonomicznie patogenem świń, odpowiedzialnym za szeroki zakres problemów klinicznych określanych jako

choroby związane z PCV (PCVAD, porcine circovirus associated diseases). Pomimo że cirkowirusy zostały zidentyfikowane i opisane już jakiś czas temu, to cały czas odkrywane są nowe fakty, które ich dotyczą. W połowie pierwszej dekady XXI w. przeważający początkowo genotyp PCV2a został zastąpiony przez PCV2b. W ostatnich latach częstość występowania genotypu PCV2d wzrosła w wielu regionach na świecie. Bonckaert i wsp. (1) zbadali dystrybucję genotypów PCV2 w próbkach zebranych od osobników z klinicznymi przypadkami PCVD w Regionie Flamandzkim. W badaniu zsekwencjonowano genom 54 wirusów, pochodzących od 19 odsadzonych prosiąt i 35 tuczników z 54 różnych ferm flamandzkich.

35 próbek pochodziło z tkanki płucnej, 16 z węzłów chłonnych, 1 z serca, 1 ze śledziony i 1 z mieszaniny tkanki płucnej i węzłów chłonnych. Ilość wirusa w narządach wahała się od $1,82E+08$ do $7,56E+15$ kopii DNA/g. Wśród 54 próbek w 7 zidentyfikowano genotyp PCV2a (13,0%), w 2 genotyp PCV-2b (3,7%), w 45 genotyp PCV-2d (9 jako PCV2d-1 i 36 jako PCV2d-2). Badania potwierdziły pojawienie się PCV2d w Regionie Flamandzkim oraz wykazały, że PCV2d może być dominującym genotypem PCV zaangażowanym w kliniczne przypadki PCVD. Ostatnio genogrupa PCV2d pojawiła się w Chinach i USA, gdzie stała się już genogrupą dominującą.

Do niedawna typowanie genomowe PCV2 nie było rutynowo wykonywane we Francji, jednak od jego wprowadzenia w 2018 r. trwają badania retrospektywne w coraz większej ilości stad. Leroux i wsp. (2) zakwalifikowali do badania 7 francuskich ferm, z których w latach 2015–2017 pobierano próbki do genotypowania. W próbkach pobranych w 2015 r. zidentyfikowano szczep PCV2b, we wszystkich innych (bardziej aktualnych) zidentyfikowano szczep PCV2d. W jednym przypadku genogrupa nie mogła być określona (prawdopodobnie przez wzajemną cyrkulację dwóch szczepów z różnych genogrup). Co warto podkreślić, pomimo wyraźnej zmiany w dominacji poszczególnych genotypów PCV2, szczepionki od lat dostępne na rynku przeciwko PCV2, zawierające białko PCV2 ORF2, są skuteczne w zapobieganiu objawom klinicznym i wirerii, zarówno w zakażeniach eksperymentalnych PCV2d, jak i w warunkach terenowych. Te wstępne badania sugerują, że genogrupa PCV2d prawdopodobnie będzie w niedługim czasie grupą dominującą we Francji, jednak nie powinno to wpłynąć na strategię szczepień, która aktualnie jest stosowana we francuskich gospodarstwach.

Doniesienia o zmianach w występowaniu poszczególnych genotypów prezentowane na tegorocznym kongresie w Utrechcie pochodziły z wielu państw. Kars-Hendriksen i wsp. (3) dokonali identyfikacji szczepu powodującego przypadki kliniczne w Holandii. Przedmiotem badań były 4 wysoce pozytywne próbki węzłów chłonnych od 7 tuczników w wieku od 12 tygodni do 7 miesięcy. Próbkę poddano badaniu metodą real-time PCR. Przeprowadzono pełne sekwencjonowanie genomu PCV2, używając starterów CBB1, CBB2, CBB3 oraz CSZ2. Ułożenie sekwencji DNA i analiza filogenetyczna zostały przeprowadzone przy pomocy oprogramowania MEGA 7.0. Badanie mikroskopowe węzłów chłonnych wykazało skupiska makrofagów w pobliżu grudek chłonnych, łagodny do umiarkowanego zanik tkanki limfoidalnej, naciek histiocytarny grudek chłonnych i przewlekły, odczynowy rozrost tkanki. Po zbadaniu kompletnej sekwencji DNA w próbkach ustalono przynależność CPV-2 do konkretnego genotypu na podstawie długości par zasad kodujących głównie ORF1 i ORF2 (białka kapsydu PCV2): próbki nr 1, 2 i 3 należały do PCV2d-2, a próbka nr 4 do PCV2b. Było to pierwsze doniesienie o wystąpieniu szczepu PCV2d-2 w Holandii. Jak konkludują autorzy wystąpienia, niezbędne są dalsze badania nad prewalencją różnych genotypów PCV-2 w Holandii i ich znaczeniem klinicznym.

Swine diseases caused by circoviruses and swine influenza according to data from the 11th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM) in Utrecht

Turlewicz-Podbielska H., Pomorska-Mól M., Department of Preclinical Sciences and Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Poznań University of Life Sciences

The aim of this article was to present selected papers regarding circovirus infections in swine and also swine influenza, raised during the 11th ESPHM in Utrecht. Issues connected with circovirus-related diseases focus on studies of virus genotypes distribution and determination of the dominant PCV2 genotype in different regions of Europe. Also the prevalence of PCV2 and PCV3, the frequency of co-infection with both genotypes and PCV3 infection related gastrointestinal and respiratory symptoms in swine in European countries, were presented and discussed. These works also discussed the possible interaction between PCV2 and porcine parvovirus PPV4, assessed the pressure of PCV2 infection in pigs of different age and the impact of vaccination protocols on virus excretion. There were studies presented on the differences of virus circulation in vaccinated and unvaccinated animals. Also clinical presentation of infections with different PCV2 strains was described. Much attention was paid to assessment of oral fluid examination in diagnostic procedure. Reports regarding swine influenza have focused on the analysis of various diagnostic methods, the assessment of influenza A virus (IAV), its prevalence in piglets in the early and late nursery period and the analysis of IAV occurrence over the seasons. The diversity of influenza A viruses obtained from outbreaks and samples collected during epizootic monitoring in Spain and Portugal was also discussed, as well as the first case of the H1N1 pandemic subtype in a herd of pigs in Belgium.

Keywords: porcine circoviruses, swine influenza virus, 11 ESPHM Congress.

Poza niepatogennym cirkowirusem świń typu 1 oraz PCV2 uważanym za przyczynę problemów układowych i rozrodczych, w 2015 r. został opisany nowy cirkowirus PCV3, którego znaczenie kliniczne w patologii świń jest obecnie intensywnie badane.

Jedno z doświadczeń, którego wyniki prezentowano w Utrechcie, przeprowadzonych przez Saporiti i wsp. (4), koncentrowało się na wykrywaniu i genotypowaniu PCV2 i PCV3 u tuczników. Przebadano surowice pochodzące łącznie od 624 świń (w wieku 10–24 tygodni) z 64 ferm (10 surowic/fermę) pod kątem obecności materiału genetycznego PCV2 i PCV3. Badane fermy znajdowały się w Hiszpanii (11), Belgii (10), Francji (8), Niemczech (8), Włoszech (7), Danii (7), Holandii (5), Irlandii (5) i Szwecji (3). DNA PCV2 obecne było w 131 z 624 analizowanych surowic (21%) pochodzących z 29 ferm (45%). Liczba próbek pozytywnych wahała się znacznie między krajami i w zmiennych proporcjach wynosiła od 6% w Holandii do 70% we Francji. Z 58 zsekwencjonowanych próbek 45 udało się poddać genotypowaniu. Znalezione genotypy PCV2a, PCV2b, PCV2d wśród wszystkich badanych krajów. DNA PCV3 znaleziono w 52 z 624 badanych surowic (8%) z 30 ferm (47%) i w zmiennych proporcjach u tuczników w różnych krajach: od 4% w Irlandii i Włoszech do 14% w Holandii. Tylko 3% wszystkich poddanych badaniu próbek było pozytywnych dla obu wirusów. PCV2 i PCV3 zostały wykryte w odpowiednio 8 i 9 krajach europejskich, jednakże w bardzo odmiennych proporcjach i rzadko wraz z infekcjami

towarzyszącymi u świń. Najczęściej wykrywanym genotypem PCV2 był PCV2d (4).

Podczas kolejnego eksperymentu przeprowadzonego przez ten sam zespół Saporiti i wsp. (5) szacowano częstość występowania PCV3 u świń z zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego oraz układu oddechowego w porównaniu ze zdrowymi zwierzętami. W tym celu przebadano 315 surowic pobranych od świń z różnych ferm konwencjonalną metodą PCR w celu wykrycia DNA PCV3. Próbkę pobierano od świń w wieku od 4 tygodni do 4 miesięcy, u których wystąpiły objawy ze strony układu oddechowego (n=129) i biegunka (n=126). Grupa zdrowych, dopasowanych wiekowo świń (n=60) stanowiła grupę kontrolną. Zwierzęta z objawami ze strony układu oddechowego cechowały się różnorodnymi zmianami patologicznymi w obrębie płuc, m.in. ropno-nieżytywym zapaleniem oskrzeli, śródmiąższowym zapaleniem płuc, włóknikowo-martwiczym zapaleniem płuc i/lub zapaleniem opłucnej. U zwierząt z objawami ze strony układu pokarmowego znaleziono zmiany histopatologiczne cechujące się zanikiem i fuzją kosmków jelitowych oraz nieżytywym zapaleniem jelit i/lub okrężnicy. Obecność DNA PCV3 potwierdzono tylko w 19 próbkach z 315, co stanowi 6%. Liczba próbek pozytywnych dla PCV-3 wynosiła 8 ze 129 (6,2%) w grupie z zaburzeniami oddechowymi, 7 ze 126 (5,6%) w grupie z zaburzeniami gastrycznymi i 4 z 60 (6,7%) w grupie zwierząt zdrowych. Nie zaobserwowano związku między częstotliwością występowania zakażeń a rodzajem zmian histopatologicznych. DNA PCV3 zostało wykryte w surowicy we wszystkich grupach z podobną częstotliwością, co wskazuje, że pojawienie się PCV-3 we krwi prawdopodobnie nie ma związku z pojawieniem się zaburzeń ze strony układu oddechowego czy pokarmowego (5).

PCV2 jest jednym z czynników związanych z wystąpieniem PCVD. Dostępne dane wskazują na potencjalną możliwość interakcji pomiędzy PCV2 i PPV4. Celem eksperymentu przeprowadzonego i zaprezentowanego na kongresie przez Miłek i wsp. (6) było określenie korelacji pomiędzy obecnością PCV2 i PPV1-7 w surowicy świń. W tym celu przebadano 740 próbek surowic od 3–21-tygodniowych prosiąt z 11 ferm w Polsce. Z każdej grupy wiekowej pobrano 6–10 próbek od losowo wybranych świń. DNA PCV i PPV1-7 zidentyfikowano metodą real-time PCR, wykorzystując w badaniach próbki zbiorcze (3–5 surowic), a następnie przy pomocy testu chi-kwadrat określano różnice w częstości występowania ($p < 0,05$). 60,7% surowic okazało się negatywnych dla PCV2. Próbkę pozytywną podzielono na nisko, umiarkowanie i wysoko pozytywne. Genom PPV1-7 wykryto w 6% (PPV1) do 54,7% (PPV2) próbek zbiorczych. Wszystkie szczepy PPV, prócz PPV4, częściej występowały w próbkach PCV2-pozytywnych niż negatywnych, ale różnica była istotna tylko dla PPV3 (33,9% vs 7,7%), PPV5 (37,3% vs 12,1%), PPV6 (49,2% vs 22,0%) i PPV7 (44,1% vs 17,6%). Szczepy PPV 1, 5 i 7 częściej występowały w próbkach wysoko PV2-pozytywnych w porównaniu z nisko i średnio PCV2-pozytywnymi (odpowiednio 77,8% vs 56,3%; 55,6% vs 31,1%; 43,8% vs 33,3%), jednak różnice nie były statystycznie istotne. Zidentyfikowane

w trakcie badań duże różnice w aspekcie koinfekcji badanymi czynnikami etiologicznym i wymagającą dalszych badań, w tym określenia roli takich infekcji w patologii świń (6).

Krejci i wsp. (7) w swoich badaniach określili prewalencję PCV-2 oraz model infekcji ze zwróceniem uwagi na wczesne zakażenia u młodych prosiąt. Do badań zakwalifikowano 20 ferm we Francji, 13 w Hiszpanii i 18 w Danii. Wymazy z krtani od macior i 3-tygodniowych prosiąt oraz płyn ustny od prosiąt w wieku 6, 8, 12, 16, 20, 24 tygodni badane były metodą PCR, surowica natomiast testem ELISA. Wykazano istotne różnice między badanymi krajami. Prewalencja PCV-2 we Francji i Danii była najwyższa u świń w wieku od 16 do 20 tygodni życia, w Hiszpanii natomiast ilość wirusa w badanych próbkach była podobna u świń w wieku od 8 do 24 tygodni. Różnice dotyczyły także liczby macior PCV2-pozytywnych, PCV2-pozytywnych prosiąt odsadzonych i poziomu przeciwciał matczyńskich u prosiąt. Ponadto obserwowano istotne różnice w badanych parametrach w różnych fermach. Powyższe sugeruje potrzebę wprowadzenia właściwych metod diagnostycznych oraz ustalenia skutecznych środków zapobiegawczych i kontrolnych, dobieranych indywidualnie do potrzeb gospodarstwa (7).

Kontrola PCVAD jest aktualnie oparta na strategiach zarządzania, kontroli zakażeń towarzyszących oraz szczepieniach. Dostępnych jest wiele szczepionek oraz protokołów szczepień dla loszek, loch i prosiąt, które są wprowadzane na całym świecie w celu redukcji transmisji poziomej i pionowej patogenu. Brilland i wsp. (8) w badaniach zaprezentowanych uczestnikom konferencji w Utrechcie skupili się na ocenie presji zakażenia PCV2 w różnych grupach wiekowych świń oraz wpływu różnych protokołów szczepień na stopień siewstwa PCV-2. Badacze zakwalifikowali do oceny 20 ferm z zachodniej Francji (próbki pobierano od grudnia 2017 do marca 2018 r.). W trakcie jednej wizyty na fermie pobierano wymazy z krtani od 10 loch i 2 prosiąt z każdego miotu tuż przed odsadzeniem oraz pięć próbek płynu ustnego na kojec od prosiąt w okresie poodsadzeniowym i w okresie tuczu (świnie w wieku od 6 do 24 tygodni). Każda próbka była poddana indywidualnym testom qPCR pod kątem obecności DNA PCV2.

Siewstwo wirusa miało miejsce u 5 z 400 badanych tuż przed odsadzeniem prosiąt (1,2%) pochodzących z 4 ferm. W 7 stadach zarodowych wyniki dodatnie potwierdzono u macior (5,5%). W parach maciora-prosie siewstwo nie było regułą. Szczepienie loszek ograniczało pojawianie się pozytywnych loch na porodówce ($p=0,04$), natomiast szczepienie zarówno loszek, jak i loch redukowało siewstwo u odsadzanych przez nie prosiąt ($p=0,12$; $p=0,275$). Szczepienie stad zarodowych zmniejszało także ryzyko siewstwa u prosiąt w okresie poodsadzeniowym ($p=0,09$; $p=0,27$). Infekcje PCV2 mogą długo utrzymywać się w stadzie w związku z cyrkulacją wirusa na porodówce poprzez siewstwo przez loszki i młode lochy. W badaniach Brilland i wsp. (8) częstość występowania siejących PCV2 odsadzanych prosiąt była niska, a szczepienie stad zarodowych uznano za kluczowe dla kontroli dynamiki infekcji PCV2.

Znajomość chorobotwórczości różnych genotypów/ szczepów wirusa PCV2 jest ważna w ocenie efektywności szczepień. Najnowsze badania Palya i wsp. (9) wykazały, że w Europie występują genotypy PCV2a, PCV2b i PCV2d. Celem pracy była ocena i porównanie cech infekcji wymienionymi szczepami pochodzącymi od świń z Belgii i Węgier. W tym celu 8-tygodniowe, nieszczepione świnię poddane zostały donosowej inokulacji szczepami PCV2a, PCV2b (niskiego i wysokiego pasażu), PCV2d-1, PCV2d-2. Przez 4 tygodnie raz w tygodniu badano poziom wirerii, siewstwo z kałem i odpowiedź humoralną. Po wykonaniu badań sekcyjnych ilość wirusa określano w węzłach chłonnych śródpiersiowych i krezkowych. Tydzień przed eksperymentem badane świnię nie miały lub miały bardzo niski poziom przeciwciał przeciwko PCV-2. Poziom IgM był mierzalny 2 tygodnie po inokulacji dla PCV2a, PCV2b niskiego pasażu i PCV-2d-1, natomiast poziomy IgG mierzalny był od trzeciego tygodnia po inokulacji dla wszystkich szczepów. Wiremia i siewstwo z kałem występowało już tydzień po eksperymentalnym zakażeniu u 20% zwierząt w każdej z grup. Ilość kopii wirusa PCV2 wydalanych z kałem, a także we krwi wzrastała wraz z czasem trwania eksperymentu. Przed eutanazją grupa zakażona PCV2b wysokiego pasażu cechowała się znacznie niższym siewstwem i mniejszą ilością wirusa w węzłach chłonnych w porównaniu do innych badanych grup, co było szczególnie widoczne w przypadku węzłów chłonnych krezkowych. Podsumowując, wszystkie badane izolaty wzbudzały odporność humoralną, powodowały wiramię i siewstwo. Najwyższe wartości obserwowano w przypadku inokulacji z użyciem szczepów PCV2a, PCV2b niskiego pasażu i PCV2d (9).

Ilościowa ocena wirerii PCV2 jest obecnie złotym standardem w monitoringu zakażeń PCV2 u świń. Ostatnio jednak dużo uwagi poświęcono pobieraniu płynu ustnego, ponieważ jest to metoda mniej inwazyjna i pozwalająca pobrać więcej próbek od większej liczby zwierząt na raz. Cvjetkovi i wsp. (10) dokonali pomiaru ilości PCV2 w próbkach płynu ustnego i, jeśli było to możliwe, sklasyfikowali główne genotypy wirusa. Do eksperymentu zakwalifikowano 20 ferm odchowujących tuczniaki. Dwa sznurki umieszczono w 2 różnych kojcach na około 30 minut. Sznurki nie miały bezpośredniego kontaktu z jedzeniem, wodą i odchodami. Płyn ustny z obu sznurków był pulowany przed analizą. Ilościowego pomiaru PCV2 dokonano, wykorzystując metodę real-time PCR, a następnie zsekwencjonowano genom PCV2 w próbkach pozytywnych i dokonano analizy filogenetycznej. Z 20 próbek 14 okazało się pozytywnych, ze średnią zawartością $9,14E+06$ kopii DNA PCV2/ml. Badacze zsekwencjonowali 4 próbki należące do genotypu PCV2-a (3 stada zaszczepione, 1 niezaszczepione) i jedną próbkę należącą do genotypu PCV2-b. Jedna z próbek wykazywała sekwencję nukleotydów i długość fragmentów DNA podobną zarówno do szczepu PCV2-d, jak i do PCV2-e i w związku z tym nie mogła być ostatecznie zakwalifikowana. Cvjetkovi i wsp. (10) wykazali, że pobieranie płynu ustnego jest skuteczną metodą monitoringu krążenia PCV2 w stadzie, dzięki

której można określić obecność, ilość, a w niektórych przypadkach i genotyp cirkowirusa świń. Wysoka zawartość DNA PCV2 w płynie ustnym musi być zawsze porównywana z objawami klinicznymi (podklinicznymi) i może otwierać drogę do dalszych kroków diagnostycznych, włączając w to badania serologiczne, wirusologiczne i patomorfologiczne.

Z kolei Woźniak i wsp. (11) porównali obecność DNA PCV2 w surowicy, kale i płynie ustnym od świń z 10 ferm w Polsce, gdzie zaszczepiono zwierzęta przeciwko PCV2. Próbkę pobierano z ferm, na których używane były różne szczepionki i różne protokoły szczepień. PCV2 wykryto w płynie ustnym w 9 na 10 ferm. Około 56,8% poddanych badaniu próbek było pozytywnych, a częstość występowania wahała się od 0% i do 100%. Wirus w kale obecny był w 8 na 10 ferm. 37,9% próbek kału było pozytywnych dla PCV2, a prevalencja wahała się od 0 do 75%. Obecność PCV2 w surowicy wykryto tylko na 4 fermach z 10. Populacje świń szczepionych przeciwko PCV2 charakteryzują się różnym krążeniem wirusa zarówno w surowicy, kale, jak i płynie ustnym. Wykazano, że zwierzęta bez wirerii mogą wydalać PCV2 w kałem. Płyn ustny jest przez autorów rekomendowany jako dobra matryca do monitoringu i eliminacji PCV2 ze stada (11).

Gass-Cofré i wsp. (12) przebadali stado liczące 600 macior pod kątem różnic w krążeniu wirusa u szczepionych i nieszczepionych zwierząt. Indywidualne próbki krwi i śliny pobrano od 20 zwierząt z różnych grup wiekowych przed i po wprowadzeniu szczepionki Porcilis PCV ID. Próbkę śliny były pobrane indywidualnie od tych samych zwierząt, którym jednocześnie pobrano krew, dodatkowo z badanych kojców pobrano zbiorcze próbki płynu ustnego. Wszystkie próbki przebadano za pomocą qPCR. Wykazano, że w ślinie i płynie ustnym ilość wirusa była porównywalna. Jednakże w ślinie ilość PCV-2 była istotnie wyższa i wykrywanie materiału genetycznego możliwe było wcześniej i dłużej niż we krwi. 95% próbek śliny pobranej od odsadzonych prosiąt było pozytywnych, a ilość wirusa malała wolniej w porównaniu do krwi, gdzie szczyt wirerii przypadał na 10 tydzień życia prosiąt. Próbkę od grup szczepionych cechowały się statystycznie niższą ilością wirusa prawie we wszystkich typach próbek i grupach wiekowych w porównaniu do zwierząt z grup nieszczepionych. Ślina okazała się medium łatwym do pobrania, mogącym zastąpić sznurki wykorzystywane do pobierania płynu ustnego, zwłaszcza u młodszych zwierząt. Różne dane potwierdzają, że ilość wirusa w ślinie jest wyższa, i jest on dłużej wykrywalny niż we krwi, więc pobieranie śliny może być praktycznym sposobem monitorowania krążenia wirusa. Wyniki badań potwierdzają ponadto, że szczepionki są efektywnym narzędziem do ograniczenia krążenia wirusa (12).

Grypa świń w świetle doniesień z Utrechtu

Wirus grypy świń typu A (influenza A virus – IAV) wywołuje chorobę układu oddechowego u świń, którą cechuje wysoka zachorowalność, ale niska śmiertelność. Typ A wirusa dzieli się na podtypy klasyfikowane na podstawie kombinacji glikoprotein

powierzchniowych: hemaglutyniny (18 HA) i neuraminidazy (11 NA). Najczęściej występujące w Europie podtypy to H1N1 pochodzenia ptasiego (H1avN1), H1N2 pochodzenia ludzkiego (H1huN2), H3N2, pandemiczny H1N1 (H1pdmN1) i (ostatnio) H1pdmN2 z możliwymi reasortantami.

Tschentscher i wsp. (13) przeanalizowali różne metody diagnostyczne wykorzystywane w diagnostyce grypy świń, takie jak ELISA i test hamowania hemaglutynacji (HI) oraz RT-PCR. W pierwszej połowie 2018 r. poddali badaniu 4566 próbek surowic kompetywnym testem ELISA, 9874 próbek surowic przy pomocy HI i 5453 próbek (66,0% wymazów z nosa, 19,1% próbek płynu ustnego, 10,4% próbek tkanki płucnej) metodą PCR. Kolejne 816 próbek poddano subtypowaniu metodą RT-PCR, koncentrując się na różnych genach dla HA i NA. Różne szczepy 5 najczęściej występujących w Europie podtypów użyte były jako antygeny dla testu HI. Dane analizowano zgodnie z przynależnością do grupy wiekowej i kraju pochodzenia. Liczba próbek pozytywnych wahała się od 26,3% (HI) do 56,9% (ELISA). Większość próbek wykorzystanych do testu HI pochodziła od macior (64,7%), a poddanych ELISA od tuczników (50,3%). Większość próbek poddanych testom PCR pochodziła od prosiąt (40,6%) i tuczników (31,1%). Rozmieszczenie podtypów różniło się w zależności od metody diagnostycznej (PCR/HI) i kraju pochodzenia.

Biorąc pod uwagę wyniki testu HI, najczęściej występującym w Niemczech podtypem okazał się H1avN1 i H3N2, natomiast zgodnie z wynikami testu PCR najczęściej występującymi podtypami w Niemczech, Francji i Holandii były H1avN1 oraz H1huN2 i H1avN2 we Francji i Niemczech. Przyczyny różnicowania rozmieszczenia podtypów powinny być dalej analizowane, biorąc pod uwagę kraj, status szczepienia, wielotorowość infekcji oraz wiek zwierząt (13).

Wirus grypy świń typu A (IAV-S) występuje w zasadzie na całym świecie. Najnowsze badania dowodzą, że IAV-S stale krąży wśród prosiąt w okresie poadszeniowym, szczególnie w wieku 4–5 tygodni, kiedy zanika odporność matczyna. Vangroenweghe (14) ocenił prewalencję IAV-S na podstawie badania próbek wymazów tchawiczo-oskrzelowych (tracheo-bronchial swabs-TBS) od prosiąt we wczesnej i późnej fazie odchowu oraz różnice w występowaniu IAV-S na przestrzeni pór roku.

W ramach eksperymentu, trwającego od stycznia 2011 do grudnia 2015 r., przebadano 878 stad z Belgii i Danii, w których świny wykazywały zaburzenia ze strony układu oddechowego w okresie poadszeniowym. TBS zostały pobrane od przynajmniej 15 kaszlących prosiąt z każdej grupy wiekowej w trakcie odchowu (3–5 tygodni i 6–11 tygodni). Następnie badano próbki metodą PCR pod kątem obecności IAV-S, a rezultaty były analizowane i kategoryzowane w zależności od sezonu, w którym pobrano próby.

Średnia prewalencja IAV-s w badanym okresie wynosiła 21,9%. W grupie 3–5 tygodniowych prosiąt prewalencja wynosiła 28,4%, a w grupie 6–11 tygodniowych była niższa i wynosiła 20,5%. IAV-S najczęściej stwierdzano jesienią (33,9%) i wiosną (33,8%)

niż w innych sezonach w grupie 6–11-tygodniowych prosiąt (24,8%). Stwierdzono więc, że IAV-S może być jedną z przyczyn problemów oddechowych w okresie poadszeniowym odchowu prosiąt oraz zaobserwowano znaczne różnice sezonowe w częstotliwości występowania IAV-S w opisywanych warunkach geograficznych (14).

Sosa i wsp. (15) w swoich badaniach określili różnorodność wirusów grypy typu A (IAV) pochodzących z ognisk w Hiszpanii i Portugalii, jak również z próbek pobranych w związku z monitoringiem epizootycznym. Badacze pobrali wymazy z nosa ze 141 ognisk grypy (od 10–20 zwierząt). Dodatkowo w ramach monitoringu pobrano 20 wymazów od prosiąt ssących, odsadzanych i tuczników z 17 ferm. Obecność IAV potwierdzono metodą RT-PCR w 93 ze 141 ognisk (65,9%), z czego w 48 ogniskach choroba dotyczyła prosiąt odsadzanych. Monitoring ujawnił obecność IAV w 14 z 17 gospodarstw (82,3%), co wskazuje, że IAV może powodować zarówno wybuchy choroby, jak i zakażenia podkliniczne. Najczęściej wykrywano spokrewnione z ptasimi typami szczepy H1avN2 (28,03%) i H1avN1av (15,89%). Biorąc pod uwagę fakt, że szczep H1avN2 nie był obecny w Hiszpanii do 2013 r., jego następne rozprzestrzenianie się w tym kraju należy uznać za stosunkowo szybkie. Podtypy H1 i N1 pochodzące z linii pandemicznej z 2009 roku zostały wykryte po raz pierwszy w 3 przypadkach w ciągu ostatnich 2 lat (poczynając od października 2018) r. Do tej pory zidentyfikowano 6 różnych genotypów wirusa: A, B, C, D, M i N. Niemniej jednak w 4 przypadkach wirusa nie udało się zaklasyfikować zgodnie z europejskim systemem klasyfikacji, ponieważ materiał genetyczny zawierał 1 lub więcej genów o rodowodzie ludzkim. Ponowne pojawienie się podtypów H1 i N1 z linii pandemicznej z 2009 r. i wykrycie dzięki genotypowaniu znacznej obecności w IAV genów o rodowodzie ludzkim wskazuje na bliską relację pomiędzy wirusami grypy ludzi i świń. Warto wspomnieć także, że genotypowanie jest podstawą dla zrozumienia różnic i dynamiki cyrkulacji wśród wirusów grypy atakujących świny (15).

Podtypy H1N1, H1N2 i H3N2 krążą także w populacji świń w Belgii. Po powstaniu podtypu pandemicznego H1N1 w 2009 r. (H1pdmN1(2009)), różne warianty tego szczepu pojawiały się u świń na całym świecie. Libbrecht i wsp. (16) opisali pierwszy przypadek wystąpienia H1pdmN1(2009) w stadzie świń w Belgii. W marcu w 2018 r., w nieszczepionym przeciwko IAV stadzie świń liczącym 1200 osobników, zaobserwowano lekki kaszel i kichanie u prosiąt krótko po odsadzeniu. Objawy mogły trwać podczas całego okresu odchowu, zanikały podczas okresu tuczu. Nie obserwowano ich u loszek i loch. Wymazy z nosa od 17 na 20 prosiąt były pozytywne dla IAV (RT-PCR). Wykazano obecność podtypu H1pdmN1 w 7 wymazach. Zgodnie z opublikowanymi danymi lochy, loszki i prosięta ssące są także podatne na zakażenie ludzkimi pandemicznymi szczepami IAV i ich reasortantami. Komercyjnie dostępne w Europie szczepionki przeciwko niepandemicznemu szczepom nie zapewniają wystarczającej ochrony krzyżowej przeciwko szczepom pandemicznym IAV, ostatnio jednak w IDT Biologika

wyprodukowano szczepionkę RespiPorc[®]FLUpan H1N1, która chroni trzodę chlewną przed grypą pandemiczną. Podsumowując, autorzy stwierdzają, że szczepy H1N1 i H3N2 są szczepami IAV najczęściej krążącymi w Belgii, jednakże H1pdmN1(2009) także może stanowić źródło problemów. Jak wykazano, był on związany z problemami oddechowymi u odsadzonych prosiąt (16).

Piśmiennictwo

1. Bonckaert C., Rolly E., Allais L., Van Colen S., De Jonghe E., Smits H., De Backer P.: PCV2 genotype distribution and organ samples collected from PCVD clinical cases in Flanders. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
2. Leroux A., Poret L., Nalovic A., Poudevigne G., Tosser H., Miélli L., Colin F.: PCV2D genogroup might have become dominant in France. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
3. Kars-Hendriksen S., Homonnay Z., Houben M., Junker K., Smits H.: PCV2D-2 virus detected in Netherlands. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
4. Saporiti V., Sibila M., Correa-Fiz F., Grosse Liesner B., Segalés J.: Detection and genotyping of PCV-2 and detection of PCV-3 in serum samples from different European farms. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
5. Saporiti V., Cruz T. F., Correa-Fiz F., Núñez J., Sibila M., Segalés J.: Frequency of porcine circovirus 3 detection in serum of pigs with respiratory and digestive disorders. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
6. Milek D., Wozniak A., Stadejek T.: Co-infection by porcine circovirus type 2 (PCV2) and porcine parvoviruses 1–7 (PPV1–7) in serum of pigs. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
7. Krejci R., Brilland S., Espigares D., Albin M., Luppi A., Palya V., Homonnay Z.: Characteristics of PCV2 infection dynamic relative to the age of pigs in three EU countries. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
8. Brilland S., Capdevielle N., Krejci R., Luppi A., Deffontaine C., Leblanc-Maridor M.: Infection pressure of PCV2 in 20 French farms and impact of the vaccination on the excretion. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
9. Palya V., Homonnay Z., Van Colen S., Mato T., Farkas T., Kiss I.: Comparison of contemporary strains of different PCV2 genotype viruses by experimental infection of pigs. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
10. Cvjetkovi V., Antonczyk C., Waehner C., Harzer M., Heenemann K., Rückner A., Sieg M., Schwarz B. A., Vahlenkamp T.: Prevalence of PCV2 genotypes in oral fluid samples originating from German and Austrian pig fattening farms. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
11. Woźniak A., Milek D., Stadejek T.: Detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) in different diagnostic materials. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
12. Gass-Cofré A., Pausenberger A., Schlessmann K., Tabeling R.: Introduction of PCV-2 vaccination in a sow farm and effects on virus load in blood and saliva samples. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
13. Tschentscher A., Böhmer J., Schüler V., Pesch S., Strutzberg-Minder K.: Swine influenza – results from routine diagnostics. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
14. Vangroenweghe F.: Prevalence and seasonal variation of influenza A virus – swine circulation in nursery pigs over a 5-year period in Belgium and the Netherlands. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
15. Sosa S., Cortey M., Cassanovas C., Barrabés S., Mesonero-Escuredo S., Tello M., Mateu E., Martín-Valls G.: Epidemiological surveillance and characterization of influenza A viruses (IAV) in Spanish and Portuguese pig farms. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.
16. Libbrecht E., Olde Monnikhof M., Schüller V., De Cuyper S., Van Der Wolf P.: First detection of PDMH1N1(2009) in a swine herd in Belgium. *Abstract book of the 11th European Symposium of Porcine Health Management*, 22–24.05.2019, Utrecht, Holandia.

Prof. dr hab. Małgorzata Pomorska-Mól,
e-mail: mpomorska@up.poznan.pl