

# Zmienność wirusa PRRS – podstawowy problem w skutecznym zwalczaniu zespołu rozrodczo-oddechowego świń

Zygmunt Pejsak, Marian Trusczyński

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

Artykuł opracowano na podstawie referatu wygłoszonego przez H. Nauwyncę na 23 Kongresie IPVS, który odbył się w dniach 8–11 czerwca 2014 r. w Cancun, w Meksyku.

Zespół rozrodczo-oddechowy świń (porcine reproductive and respiratory syndrome – PRRS), jako nowa choroba pojawił się w Ameryce Północnej i Europie Zachodniej w późnych latach osiemdziesiątych i wczesnych dziewięćdziesiątych XX wieku. W Polsce stwierdzono ją w 1992 r. (1). Chorobę tę wywołuje wirus (porcine reproductive and respiratory syndrome virus – PRRSV) zaliczony do rodziny *Arteriviridae*.

Na podstawie badań genetycznych i antygenowych rozróżnia się dwie główne linie (genotypy) PRRSV: typu 1 oraz 2. Obecnie oba typy występują na całym świecie przy przewadze typu 1 w Europie i typu 2 w Ameryce Północnej i Azji (2).

We wczesnych latach dziewięćdziesiątych szczepy typu 2 były bardziej chorobotwórcze niż szczepy typu 1 PRRSV. Obie odmiany miały taką samą możliwość wywoływania zaburzeń w rozrodczości po zakażeniu w późnym okresie ciąży, jednak typ 2 PRRSV wywoływał dodatkową ogólną objawy kliniczne (podwyższoną temperaturę ciała, utratę apetytu i zaburzenia ze strony układu oddechowego), czego w takim stopniu nie stwierdzano w przypadku zakażeń typem 1 PRRSV. Ten ostatni jedynie w połączeniu z innymi patogenami lub toksynami był zdolny indukować objawy ogólne, obok objawów ze strony układu oddechowego (3).

W następstwie rekombinacji i dryftu genetycznego amerykańskie szczepy szybko podległy zmianom, dając początek nowym wariantom PRRSV, często bardziej zjadliwym i trudnym do zwalczania przy użyciu dostępnych szczepionek ze względu na nowo pojawiające się właściwości, różne od właściwości szczepu szczepionkowego PRRSV. W 2006 r. wysoce zjadliwe warianty typu 2 PRRSV pojawiły się w Chinach; obecnie wywołują one olbrzymie straty w populacji świń w Azji. Obraz chorobowy w przypadku zakażeń tymi wirusami charakteryzuje się długo utrzymującą się wysoką gorączką, zaburzeniami ze strony układu oddechowego i rozrodczego oraz wysoką śmiertelnością, zwłaszcza u prosiąt i warchlaków.

Wymienione szczepy PRRSV zagrażają innym obszarom kuli ziemskiej (4).

W Europie Wschodniej wykazano zróżnicowanie właściwości genetycznych izolatów typu 1 PRRSV, co doprowadziło do identyfikacji nowych podtypów (2, 3, 4), które okazały się różne od podtypu 1 (5). Przypuszcza się, że typ 1 PRRSV krążył w Europie długo przed zidentyfikowaniem podtypu 1 w Europie Zachodniej (cyt. wg 6). Po dokonaniu badań genetycznych dużej liczby zachodnio- i wschodnioeuropejskich szczepów typu 1 PRRSV okazało się, że zmienność szczepów PRRSV tego typu była wyższa niż szczepów typu 2 PRRSV. Umożliwiło to utworzenie systemu klasyfikacji typu 1 PRRSV z uwzględnieniem szczepów z Europy Wschodniej należących do podtypów 2 (prototyp Bor) i 3 (prototyp Lena). Okazały się one bardziej zjadliwe niż zachodnioeuropejskie szczepy, zwłaszcza subtyp 1, czyli prototypu Lelystad, o symbolu LV (7). Stwierdzono też, że szczep typu 1 PRRSV Lena (podtypu 3) jest w podobnym stopniu zjadliwy i patogenny jak typ 2 PRRSV w Azji.

Przez wiele lat w Europie Zachodniej typ 1 PRRSV wywoływał głównie zaburzenia w rozrodczości; nie występowała gorączka i zaburzenia układu oddechowego. Jednak począwszy od połowy 2013 r. typ 1 PRRSV stał się odpowiedzialny za grypopodobne objawy w Belgii i prawdopodobnie w krajach sąsiednich (cyt. wg 6). Po zakażeniu doświadczalnym świń jednym z izolatów – Flanders 13, wywołano u zakażonych zwierząt gorączkę i objawy chorobowe ze strony układu oddechowego. Genetycznie szczep ten różni się od innych szczepów typu 1 PRRSV krążących w tym regionie.

W czasie 20 minionych lat szczepy typu 1 PRRSV, podtypu 1 (czyli prototypu LV) replikowały u świń bardzo podobnie (8). Miejscem replikacji były makrofagi posiadające receptor sialoadhezywny (9, 10, 11). Komórki te występują w migdałkach, płucach, w węzłach chłonnych, śledzionie, w endometrium i łożysku płodowym, a w mniejszej liczbie w innych tkankach (7). Ponieważ szczepy tego podtypu PRRSV nie replikują zbyt intensywnie w górnych drogach oddechowych, to trudno jest je stamtąd izolować, stosując jako próbki wymazy z nosa. Także z tego powodu szerzenie się tych

## Variability of PRRS virus – the major problem in the effective control of the porcine reproductive and respiratory syndrome

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

The etiology and pathogenesis of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) was characterized basing on the lecture, presented by Hans Nauwyncę during the IPVS – Congress in Cancun, Mexico, June 8–11, 2014. Data concerning the type 1 and type 2 of PRRS virus were given including progress achieved during the last years. Large variation of the PRRSV population and continuously emerging new subtypes or variants was characterized. It was underlined that the pathogenesis of PRRS is also determined by host differentiated macrophages. High degree of variability of PRRSV generated strains which are immunologically heterologous when compared with strains present in vaccines against PRRS. These findings are important for the reliability of laboratory diagnosis and the improvement of vaccines efficacy in PRRS control. It was postulated that future research on PRRS should have priority in financial support, the global role of this disease in swine production is constantly increasing.

**Keywords:** PRRSV, variability, swine, vaccines.

szczepów drogą nos-nos nie odgrywa ważnej roli w epidemiologii PRRS (12). Szczepy typu 1 PRRSV podtypu 3 (prototyp Lena) różnią się istotnie od LV-podobnych szczepów, ponieważ są zdolne do zakażenia makrofagów, które nie posiadają receptora sialoadhezywnego (13). Odpowiedzialny za to jest prawdopodobnie inny receptor. Przewodząc doświadczenia z użyciem eksplantów z błony śluzowej nosa świń, wykazano, że w nabłonku i pod nabłonkiem dróg oddechowych obecna jest subpopulacja makrofagów umożliwiających intensywną (10–100-krotnie większą niż w przypadku podtypu 1) replikację PRRSV. Determinuje to w konsekwencji proporcjonalnie silniejszą wirusowość i siłę niż w przypadku innych szczepów typu 1 PRRSV. Opierając się na lokalizacji odkrytej subpopulacji wrażliwych makrofagów, nazywa się je „makrofagami nosowymi”. Komórki te tworzą gęstą sieć i stanowią pierwszą linię obrony przeciw zakażeniu PRRSV (14). Osłabienie sprawności makrofagów zlokalizowanych w błonie śluzowej nosa i w pęcherzykach płucnych przyczynia się prawdopodobnie do tego, że podtyp PRRSV Lena inicjuje dołączanie do procesu chorobowego wtórnych zakażeń bakteryjnych i posocznice na tym tle (15). Nowe szczepy typu 1 PRRSV, np. Flanders 13-podobne, ewoluują w tym samym kierunku jak szczep Lena. Używając

eksplantów błony śluzowej nosa, wykazano, że izolaty te również replikowały w makrofagach nie sialoadhezyndodatnich. Miana wirusa w wydzielinach z nosa od zakażonych typem 1 PRRSV zwierząt były podobne do mian wirusa namnażanego na eksplantach błony śluzowej nosa. Podczas gdy trudno było wykryć wirusy LV-podobne podtypu 1 w wydzielinie z nosa, to łatwiej było w odniesieniu do bardziej zjadliwych szczepów typu 1 PRRSV należących do podtypu 3 i szczepów Flanders 13-podobnych. Doświadczenia dotyczące patogenności tych szczepów są kontynuowane w celu wykazania, czy zdolność tych szczepów do replikacji w makrofagach nosowych związana jest z nietypowym dla większości szczepów typu 1 PRRSV szerzeniem aerogennym.

Wzrost subpopulacji makrofagów wrażliwych na zakażenie szczepami typu 1 PRRSV jest zmianą wysoce niekorzystną z patogenego punktu widzenia. Dziesięć- do stukrotnego wzrost intensywności replikacji zwiększa proporcjonalnie prawdopodobieństwo pojawiania się mutantów wirusa. Mutageneza pomaga wirusowi w ucieczce od odpowiedzi układu immunologicznego i zwiększa ryzyko szerzenia się zakażenia wysoce zjadliwymi szczepami PRRSV, co stwarza na przyszłość w Europie zwiększające się ryzyko, w aspekcie omawianej choroby. Dodatkowo z powodu bliskiego pokrewieństwa receptorów sialoadhezyzny i komórek CD163 świń z ich ludzkimi homologami, można brać pod uwagę możliwość międzygatunkowej transmisji wirusa w sensie pojawiania się chorobotwórczości PRRSV dla człowieka (16).

W nawiązaniu do tych obserwacji ze szczepami typu 1 PRRSV, autorzy prezentowanej w Cancun pracy (6) wykonali ostatnio doświadczenia ze szczepami typu 2 PRRSV w eksplantach błony śluzowej nosa. Stwierdzili, że stare (VR2332), jak też niedawne izolaty typu 2 PRRSV (SDSU-73, NADC, MN-184) z USA łatwo replikują zarówno w sialoadhezyndodatnich, jak sialoadhezyndodatnich makrofagach, zlokalizowanych w błonie śluzowej nosa (nieopublikowane dane Nauwyncka). Stwierdzenie to wyjaśnia wiele obserwowanych zjawisk. Dotychczas szczepy typu 2 PRRSV zachowywały się różnie od szczepów typu 1 PRRSV, w tym przede wszystkim replikowały w większej liczbie subpopulacji makrofagów niż szczepy podobne do klasycznego podtypu 1 typu 1 PRRSV LV. Ich intensywna replikacja w górnej części układu oddechowego różniła się od niskiego poziomu replikacji klasycznego szczepu podtypu 1 typu 1 PRRSV. Wyjaśnia to, w istotnym stopniu, dlaczego typ 2 PRRSV rozprzestrzenił się tak łatwo drogą aerogenną (17). Dodatkowo większa liczba różnych subpopulacji makrofagów, które są zakażone przez szczepy typu 2 PRRSV tłumaczy dlaczego jest

on bardziej chorobotwórczy niż klasyczny podtyp 1 typu 1 PRRSV i wywołuje stany sprzyjające wtórnym zakażeniom. Powyższe potwierdza też, dlaczego typ 2 PRRSV jest w stanie replikować także w liniach świń nieposiadających receptorów sialoadhezyndodatnich (18).

Zaprezentowane przez Nauwyncka (6) dane na temat makrofagów i postaci płucnej PRRS są ważne także z punktu widzenia udziału PRRSV w zaburzeniach w rozrodzie, co dotyczy poszczególnych szczepów PRRSV. Wirusy te replikują w makrofagach łożyska płodowego, kiedy stają się one sialoadhezyndodatnie, co ma miejsce w późnym okresie ciąży (7). Efektem jest ostre zapalenie łożyska i przenikanie wirusa do płodu. Stany zapalne łożyska są główną przyczyną uszkodzeń i zamierania płodów (11). Z powodu dużych rozmiarów łożyska i rozsianej lokalizacji PRRSV w zasadzie niemożliwe jest przeprowadzenie obiektywnych badań rozpoznawczych z powodu trudności w wyborze materiału do diagnostyki. Ponieważ płody ze względu na termin zakażenia i szybką śmierć nie są zdolne do wytworzenia przeciwciał, niemożliwe jest wykonanie badań serologicznych z wykorzystaniem łożyska. Biorąc pod uwagę te wyniki, zaleca się przeprowadzenie rozpoznania PRRS przy problemach rozrodczych metodą qRT-PCR z użyciem sznurów pepowinowych w połączeniu z wycinkami łożyska płodowego i wycinkami narządów (płuca/śledziona) poronionych płodów.

Wykrycie szczepów typu 1 PRRSV przy zaburzeniach ze strony układu oddechowego jest, jak wspomniano, trudne w przypadku szczepów typu 1 PRRSV-LV-podobnych. Szczepy takie powodują długo utrzymujące się zakażenia u młodych prosiąt, niezależnie od ich stanu klinicznego. Niejednokrotnie było to przyczyną trudności w interpretacji wyników badań serologicznych – uzyskiwano bowiem wyniki dodatnie, natomiast klinicznie status zdrowotny stad był prawidłowy. Ze względu na rozbieżności między wynikami badań laboratoryjnych a sytuacją zdrowotną świń w stadzie, wielu hodowców lekceważyło celowość szczepień, mimo diagnozy jednoznacznie wskazującej na PRRS. Zagadnienie to przedstawia się natomiast inaczej w przypadku, gdy dojdzie do zakażenia szczepami subtypów 2 i 3 typu 1 PRRSV i szczepami Flanders 13-podobnymi typu 1 PRRSV, gdyż łatwo wtedy wykazać wysoką replikację PRRSV w górnych drogach oddechowych przy użyciu qRT-PCR.

Analizując wyniki badań dotyczące mechanizmów odporności przeciwzakaźnej, można stwierdzić, że szereg elementów układu odpornościowego właściwie nie odpowiada (nie reaguje) na zakażenie PRRSV, co związane jest z właściwościami biologicznymi szczepów PRRSV. Z tego powodu wirusy te są mało skuteczne jako immunogeny,

bowiem, jak wspomniano, szereg mechanizmów odporności nie reaguje lub reaguje nietypowo na obecność PRRSV w organizmie. Przykładowo, w przypadku badania surowicy świń testem ELISA stwierdza się, że pojawienie się swoistych przeciwciał i wzrost ich poziomu ma miejsce począwszy od 8 dnia po infekcji, natomiast badając serokonwersję testem seroneutralizacji, wykazuje się, że przeciwciała pojawiają się po kilku tygodniach lub nawet później. Wykazano, że przeciwciała neutralizujące i komórki NK – naturalnie cytotoksyczne są przede wszystkim odpowiedzialne za ograniczenie replikacji wirusa. Z tego powodu mechanizmy układu odpornościowego powinny być aktywowane przede wszystkim drogą szczepień, jednak trudno obecnie określić, w jaki sposób można to najskuteczniej osiągnąć.

Mutacje, szczególnie dryft antygenowy, czyni z PRRSV „ruchomy cel”, co zasadniczo ogranicza efektywność immunoprofilaktyki z użyciem dotychczas dostępnych szczepionek (19). W nawiązaniu do tego prowadzone są aktualnie badania nad tzw. szczepionkami adaptacyjnymi, które nadążałyby za zmianami w obrębie genomu PRRSV (20).

Zgodnie z tym, jak podaje Nauwynck (6), celem firm farmaceutycznych i ośrodków naukowych powinno być opracowanie szczepionki indukującej odporność miejscową w układzie oddechowym, która chroniłaby świnię przed skutkami zakażenia niezależnie od szczepu odpowiedzialnego za zakażenie.

W konkluzji, zgodnie z przedstawionym na 23 Kongresie IPVS wykładem Nauwyncka (6), konieczne jest kontynuowanie doskonalenia metod zwalczania PRRSV. Powinno to być realizowane od zaraz, bez czekania aż dojdzie do katastrofy globalnej w produkcji trzody chlewnej z powodu PRRS, gdyż takie zagrożenie, zdaniem cytowanego autora, niewątpliwie istnieje. W szczególności pilna jest potrzeba dysponowania skutecznymi szczepionkami i udoskonaloną bioasekuracją, by w pełni skutecznie zwalczać w stadach świń cyrkulację PRRSV. Jak stwierdził Nauwynck (6), producenci świń, naukowcy i firmy farmaceutyczne muszą połączyć wysiłki, by rozwiązać problem eradykacji PRRS, a finansowanie badań z tego zakresu powinno mieć priorytetowe wsparcie. Lekceważenie wyrażonego apelu może okazać się niewybaczalnym błędem nie tylko wobec zdrowia zwierząt, ale też zdrowia ludzi, mając na uwadze wspomniane uprzednio, możliwe mutacje PRRSV w kierunku wariantów chorobotwórczych dla człowieka.

## Piśmiennictwo

1. Pejsak Z., Pawiński J., Stajeck T.: Objawy kliniczne oraz straty ekonomiczne związane z wystąpieniem zespołu rozrodczo-oddechowego świń w fermie wielkotowarowej. *Medycyna Weter.* 1995, 51, 521–524.
2. Zimmerman J. J., Benfield D. A., Dee S. A., Murtaugh M. P., Stajeck T., Stevenson G. W., Torremorell M.: Porcine

- Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). W: Zimmerman J., Karriker L., Ramirez A., Schwartz K., Stevenson G.W. (eds.): *Diseases of Swine*. 10<sup>th</sup> ed., Wiley-Blackwell, 2012, s. 461–486.
3. Van Reeth K., Nauwynck H., Pensaert M.: Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine respiratory coronavirus or swine influenza virus: a clinical and virological study. *Vet. Microbiol.* 1996, **48**, 325–335.
  4. Tian K., Yu X., Zhao T., Feng Y., Cao Z., Wang C., Hu Y., Chen X., Hu D., Tian X., Liu D., Zhang S., Deng X., Ding Y., Yang L., Zhang Y., Xiao H., Qiao M., Wang B., Hou L., Wang X., Yang X., Kang L., Sun M., Jin P., Wang S., Kitamura Y., Yan J., Gao G. E: Emergence of fatal PRRSV variants: unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark. *PLOS ONE* 2007, **2**, e526.
  5. Stadejek T., Oleksiewicz M. B., Potapchuk D., Podgorska K.: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *J. Gen. Virol.* 2006, **87**, 1835–1841.
  6. Nauwynck H., Frydas I., Christiaens I., Van Breedam W., Bonckaert C., Trus C.: Changing receptor use of PRRSV leads to different virological, immunological and clinical outcome – impact on diagnosis and control. *Proc. of the 23rd IPVS Congress*, Cancun, Mexico, June 8–11, 2014, 23–26.
  7. Karniychuk U.U., Nauwynck H.J.: Quantitative changes of sialoadhesin and CD163 positive macrophages in the implantation sites and organs of porcine embryos/fetuses during gestation. *Placenta* 2009, **30**, 497–500.
  8. Duan X., Nauwynck H.J., Pensaert M.B.: Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Microbiol.* 1997, **56**, 9–19.
  9. Duan X., Nauwynck H. J., Favoreel H. W., Pensaert M. B.: Identification of a putative receptor for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 1998, **72**, 4520–4523.
  10. Vanderheijden N., Delputte P. L., Favoreel H. W., Vanderkerckhove J., van Damme J., van Voensel P. A., Nauwynck H. J.: Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory virus into porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 2003, **77**, 8207–8215.
  11. Karniychuk U. U., Nauwynck H. J.: Pathogenesis and prevention of placental and transplacental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Res.* 2013, **44**, 95–109.
  12. Albina E.: Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. *Vet. Microbiol.* 1997, **55**, 309–316.
  13. Frydas I., Verbeeck M., Cao J., Nauwynck H. J.: Replication characteristics of porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) European subtype 1 (Lelystad) and subtype 3 (Lena) strains in nasal mucosa and cells of the monocytic lineage: indications for the use of new receptors of PRRSV (Lena). *Vet. Res.* 2013, **44**, 73–86.
  14. Vareille M., Kieninger E., Edwards R. M., Regamey N.: The airway epithelium: soldier in the fight against respiratory viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011, **24**, 210–229.
  15. Karniychuk U. U., Geldhof M., Vanhee M., Van Doorslaere J., Saveleva T. A., Nauwynck H. J.: Pathogenesis and antigenic characterization of a new East European subtype 3 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate. *BMC Vet. Res.* 2010, **6**, 30–40.
  16. Van Breedam W., Verbeeck M., Christiaens I., Van Gorp H., Nauwynck H. J.: Porcine, murine and human sialoadhesin (Sn/Siglec-1/CD169): portals for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) entry into target cells. *J. Gen. Virol.* 2013, **94**, 1955–1960.
  17. Otake S., Dee S., Corzo C., Oliveira S., Deen J.: Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet. Microbiol.* 2010, **145**, 198–208.
  18. Prather R. S., Rowland R. R., Ewen C., Tribel B., Kerrigan M., Bawa B., Teson J. M., Mao J., Lee K., Samuel M. S., Whitworth K. M., Murphy C. N., Egen T., Green J. A.: An intact sialoadhesin (Sn/SIGLEC1/CD169) is not required for attachment/internalization of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol.* 2013, **87**, 9538–9546.
  19. Labarque G. G., Nauwynck H. J., Van Reeth K., Pensaert M. B.: Effect of cellular changes and onset of humoral immunity on the replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the lungs of pigs. *J. Gen. Virol.* 2000, **81**, 1327–1334.
  20. Nauwynck H., Van Gorp H., Vanhee M., Karniychuk U., Geldhof M., Cao A., Verbeeck M., Van Breedam W.: Micro-dissecting the pathogenesis and immune response of PRRSV infection paves the way for more efficient PRRSV vaccines. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012, **59**, 50–54.

Prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, al. Partyzan-tów 57, 24–100 Puławy; e-mail: zpejsak@piwet.pulawy.pl.