



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASAT



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

REZUMAT

Circovirusul porcine tipul 2 și virusul Sindromului respirator și de reproducție suină reprezintă determinantul major al complexului bolilor respiratorii suine (PRDC-Porcine respiratory disease complex).

Complexul bolilor respiratorii suine (PRDC) este un sindrom multifactorial care presupune implicarea a numeroși agenți etiologici. Prin urmare, detectarea timpurie și prevenția coinfecțiilor reprezintă aspecte importante în gestionarea PRDC. Tineretul suin este cel mai sever afectat, având în vedere că morbiditatea poate fi de până la 70%. Circovirusul porcine tipul 2 și virusul PRRS reprezintă principalii agenți etiologici ai PRDC, dar alături de ei pot interveni și virusul Gripei suine (SIVs- Swine influenza virus), coronavirusul respirator porcine, *Mycoplasma spp.*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* and *Pasteurella spp.*

Lucrarea de față cuprinde 265 de pagini și este structurată în două părți conform criteriilor în vigoare și în nouă capitole.

Prima parte (capitolele I și II) reprezintă stadiul actual al cunoașterii și conține date din bibliografia de specialitate cu privire la infecția cu Circovirusul porcine tipul 2 și Sindromul respirator și de reproducție suin.

Partea a doua (capitolele III, IV, V, VI, VII, VIII și IX) cuprinde cercetările proprii, care sunt structurate în fiecare capitol în subcapitole ce reprezintă materialele și metodele folosite, rezultatele obținute și discutarea acestora și concluziile parțiale.

Capitolul III prezintă scopul și obiectivele tezei de doctorat.

Capitolul IX cuprinde principalele concluzii care se desprind consecutiv cercetărilor efectuate și recomandările către fermieri, iar apoi bibliografia care cuprinde 423 titluri bibliografice.

Prima parte a tezei de doctorat reprezintă o sinteză a informațiilor disponibile până în prezent în bibliografia internă și internațională, cu privire la infecția cu Circovirusul porcine tipul 2 și la Sindromul respirator și de reproducție suin.

Capitolul I reprezintă un studiu bibliografic privind rezultatele cercetărilor pe plan național și internațional cu privire la infecția cu Circovirusul suin tipul 2, cu referire la istoricul



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTnice
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPOSDRU



USAMV Iași

și etiologia infecției, caracterele epidemiologice ale virusului, patogeniza infecției circovirale, Complexul bolilor asociate PCV2 (PCVAD), coinfecțiile, diagnosticul de laborator, prevenția și controlul bolilor asociate infecției cu PCV2, măsurile de supraveghere și combatere, precum și date despre prezența circovirusului porcine la mistreți.

Capitolul II conține date bibliografice despre Sindromul respirator și de reproducție suin, cu referire la istoricul, etiologia, caracterele epidemiologice și patogeniza PRRS, tabloul clinic și morfopatologic al infecției, diagnosticul, prevenția și controlul infecției precum și măsurile de combatere.

Premiza realizării cercetărilor a constat în efectuarea unor investigații epidemiologice privind Circoviroza suină și Sindromul respirator și de reproducție suin, pentru a determina prezența și prevalența PCV2 și PRRSV la efective de porci din zona Moldovei și din Muntenia, iar prezența manifestărilor clinice a infecțiilor nu a fost un criteriu în alegerea efectivelor. S-a urmărit în ce măsură este posibilă identificarea celor două infecții la efective de porci care nu prezintă semne clinice pentru nici una dintre cele două boli, sau dimpotrivă, în ce măsură se întâlnește PCV2 într-un focar de PRRSV și invers.

De asemenea, a fost interesant de urmărit în ce măsură influențează persistența infecției cu PRRS, respectarea cu strictețe a măsurilor de combatere a acestui sindrom.

Pentru realizarea acestor deziderate, s-au efectuat testări serologice utilizând metoda ELISA, s-a efectuat detecția antigenelor virale PCV2 și PRRSV prin reacția PCR (Real-Time, clasic și nested), iar ulterior s-au analizat secvențele obținute și s-a realizat analiza filogenetică a acestora.

În partea a doua, redactată în șapte capitole, s-au prezentat cercetările proprii ce au cuprins scopul și obiectivele investigate, cu referire la seroprevalența infecției cu PCV2 și aspectele anatomoclinice la suine (cap. IV), seroprevalența infecției cu PRRSV și aspectele anatomoclinice la suine (cap. V), detecția antigenelor virale în Circoviroza suină și Sindromul respirator și de reproducție suin (cap. VI), diagnosticul histopatologic în Circoviroza suină și Sindromul respirator și de reproducție suin (cap. VII), corelarea infecțiilor produse de PCV2 și PRRSV (cap VIII).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL ÎNCĂLZII, FAMIJELI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSONELUR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPOSDRU



USAMV Iași

În capitolul IX sunt prezentate principalele concluzii care se desprind în urma rezultatelor obținute consecutiv examenelor clinice, morfopatologice și de laborator utilizate în diagnosticul celor două infecții.

Rezultatele investigațiilor privind seroprevalența infecției cu PCV2 (cap.IV) diferă la fiecare efectiv investigat, dar s-a observat o prevalență crescută (65,68%) pentru anticorpii IgG, comparativ cu anticorpii IgM care s-au detectat într-un procent mai redus (4,22%). Procentul de pozitivitate obținut în urma reacției Real-Time PCR pentru detecția PCV2 a fost de 35,30%. În urma examenelor clinice și necropsice, s-a constatat că lipsa semnelor clinice și a leziunilor nu exclude posibilitatea decelării anticorpilor și/sau detecției antigenului la animalele clinic sănătoase, dar purtătoare de virus, care sunt responsabile de transmiterea și extinderea infecției cu PCV2.

Rezultatele investigațiilor privind seroprevalența infecției cu PRRSV (cap. V) au dovedit o prezență redusă a infecției cu PRRSV, printr-un procent redus de anticorpi anti-PRRSV prezenți în ser (2,60%), dar și de detecție al antigenului viral (8,32%). S-a dovedit că virusul PRRSV poate fi prezent într –un efectiv în care nu s-au aplicat măsurile de eradicare în momentul diagnosticării unui focar, atât printr-o formă clinică cât și inaparentă. Ca și în cazul infecției cu PCV2, s-a dovedit că lipsa semnelor clinice și a tabloului lezional nu exclude posibilitatea decelării anticorpilor și/sau detecției antigenului la animalele clinic sănătoase, dar purtătoare de virus, care sunt responsabile de transmiterea și extinderea infecției cu PRRSV.

Cercetările privind detecția antigenelor virale în Circoviroza suină și Sindromul respirator și de reproducție suin (cap.VI) au avut ca și finalitate identificarea antigenelor virale prin amplificare PCR a probelor corespondente rezultatelor pozitive în urma testării serologice. Analizând rezultatele s-a observat o sensibilitate crescută a tehnicii Real-Time PCR comparativ cu tehnica clasică, pentru ambele infecții. În mod surprinzător, la un efectiv de animale clinic sănătoase s-a diagnosticat infecția subclinică cu PCV2 și infecția persistentă cu PRRSV și prin amplificare clasică PCR.

Pentru secvențele de PCV2 izolate în urma cercetărilor efectuate s-a observat o înrudire din punct de vedere filogenetic cu o tulpină izolată în China, respectiv cu o tulpină de PCV2



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPLASAT



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

izolată din același areal de la suinele sălbatice. În cazul secvențelor de PRRSV, s-a observat o înrudire a acestora cu tulpini izolate din același areal de la suinele domestice.

Examenul histopatologic a evidențiat leziuni specifice formei cronice pentru cele două infecții, confirmate serologic și prin Real-Time PCR, la un efectiv la care a evoluat un episod de PRRSV și nu s-au respectat măsurile de eradicare în momentul depistării focarului (cap. VII).

Corelarea infecției cu Circovirusul porcine tipul 2 și Virusul sindromului respirator și de reproducție suin s-a realizat în capitolul VIII, iar cel mai interesant aspect îl reprezintă prezența infecției duble PCV2 și PRRSV la un efectiv de animale clinic sănătoase, o infecție subclinică cu PCV2 (la care s-au identificat anticorpii specifici, concomitent cu detecția antigenelor din țesuturi) și o infecție persistentă cu PRRSV care a determinat apariția unui răspuns slab de anticorpi neutralizanți și lipsa eliminării virusului din țesuturi în timpul replicării virale abundente.

Infecția dublă PCV2 și PRRSV s-a pus în evidență de asemenea și la un focar de PRRSV și este posibil ca agentul etiologic care a acționat întâi să fi fost PCV2, având în vedere efectul imunosupresor pe care îl manifestă. Prin urmare, această infecție dublă PCV2 și PRRSV poate fi întâlnită atât la efective care prezintă manifestare clinică cât și inaparent, iar efectuarea de testări periodice (Real-Time PCR) pentru cele două infecții contribuie la controlul instalării unor noi episoade de boală.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPOSDRU



USAMV Iași

ABSTRACT

The porcine circovirus type 2 and the porcine reproductive and respiratory syndrome virus are the major determinant of the swine respiratory disease complex (PRDC-Porcine respiratory disease complex).

The porcine respiratory disease complex (PRDC) is a multifactorial syndrome that implies allegedly involvement of many etiological agents. Therefore, early detection and prevention of co-infections are important aspects in managing PRDC. The swine youth is the most severely affected given the morbidity can be up to 70%. The porcine circovirus type 2 and PRRS virus are the main etiological agents of PRDC, but they can be adjoined by the Swine influenza virus (SIV), Porcine respiratory coronavirus, *Mycoplasma spp.*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis* and *Pasteurellas pp.*

The paper is made of 265 pages and it is divided into two parts (according to required criteria) and eight chapters.

The first part (Chapters I and II) delivers the current level of knowledge and data from the international bibliography on porcine circovirus type 2 and on the porcine reproductive and respiratory syndrome virus.

Part two (chapters III, IV, V, VI, VII, VIII and IX) is dedicated to own research and each chapter is structured into sub-chapters that comprises the materials and methods used, obtained results and their debate and partial conclusions.

Chapter III present the aim and the objectives of PhD thesis.

Chapter IX contains the main conclusions that have been drawn following the extensive research and study of recommendations to farmers; and the bibliography includes 423 references.

The first part of the doctorate thesis is a summary of the data currently available in the international literature as respect to porcine circovirus type 2 infection and porcine reproductive and respiratory syndrome virus.

Chapter I is a bibliographic study on the results of national and international research regarding the infection with porcine circovirus type 2, with reference to the history and etiology



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL ÎNVIETĂRII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSONELOR VÂRSTNICI
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

of the infection, epidemiological characteristics of the virus, pathogenesis of circoviral infection, PCV2 associated disease complex (PCVAD), co-infections, laboratory diagnosis, prevention and control of diseases associated to PCV2 infection, surveillance and control measures as well as the data on the presence of the porcine circovirus in wild boar.

Chapter II contains bibliographical data on the porcine reproductive and respiratory syndrome virus with reference to its historical background, etiology, epidemiological characteristics and PRRS pathogenesis, clinical and morpho-pathological picture of the infection, diagnosis, prevention and control of the infection applied measures.

The premise of carrying out the research was to conduct epidemiological investigations on the swine circovirus and on the porcine reproductive and respiratory syndrome to determine the presence and the prevalence of PCV2 and PRRSV in pig livestock from Moldavia and Southern Romania and the presence of clinical manifestations was not a selection criteria of the herds. It has been pursued whether is possible to identify the two infections in pig herds which haven't shown any clinical signs for any of the two diseases, or on the contrary to which extent PCV2 is found in a PRRSV outbreak and vice versa.

It was also interesting to discover to what extent the persistence of PRRS infection is influenced by the strict compliance with the measures to combat the syndrome.

In order to achieve these goals there were performed serological tests using ELISA method; it was also effectuated detection of PCV2 and PRRSV viral antigens by PCR reaction (Real-Time, classic and nested) and subsequently there were studied the sequences obtained and their phylogenetic analysis.

In the second part of the study, organised in seven chapters, the research was focused on seroprevalence of PCV2 infection and anatomoclinical aspects in pigs (chapter IV), on seroprevalence of PRRSV infection and anatomoclinical aspects in pigs (Chapter V), on detection of viral antigens of the porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome (chapter VI), on histopathological diagnosis in porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome (chapter VII) and on correlation of infections caused by PCV2 and PRRSV (chapter VIII).



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL ÎNCĂLZIRII, FAULTEI,
PROTECTORII SOCIALE ŞI
PERSONELUL VÂRSTNIC
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OPOSDRU



USAMV Iași

In chapter IX are listed the main conclusions drawn from the results consecutive to clinical, morpho-pathological and laboratory examinations used in diagnosing both infections.

The results of investigations on the seroprevalence of PCV2 infection (Chapter IV) register differences in each livestock studied, but it was observed a high prevalence (65.68%) of IgG antibodies in comparison with IgM antibodies ratio which were detected in a much lower percentage (4.22%). The positivity ratio at the end of Real-Time reaction for the detection of PCV2 was of 35.30%. Following clinical and necropsy examinations, it was found that the lack of clinical signs and lesions do not exclude the possibility of diminished numbers of antibodies and/ or antigen detection in clinically healthy animals but PCV2 virus carriers, which are responsible for the transmission and spread of the PCV2 infection.

The results of investigations on the seroprevalence of PRRSV infection (Chapter V) showed a reduced presence of PRRSV infection as a small percentage of anti-PRRSV antibodies detected in the serum (2.60%) and of viral antigen one (8.32%). It was proven that PRRSV virus may be present in a herd to which no eradication measure was applied at the time of an outbreak diagnosis both by clinical and unapparent means. As in PCV2 infection it was proven that the lack of clinical signs and lesions picture do not exclude the possibility of diminished numbers of antibodies and/or antigen detection in clinically healthy animals but virus carriers, which are responsible for the transmission and spread of the PRRSV infection.

The research on the detection of viral antigens in porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome (chapter VI) pursued the identification of viral antigens by PCR amplification of the samples corresponding to positive results after serological testing. Analysing the results it has been noticed an increased sensitivity of Real-Time PCR technique compared to the classical one for both infections. In a livestock clinically healthy it was diagnosed PCV2 subclinical infection and persistent infection with PRRSV by classical PCR amplification.

For the PCV2 isolated sequences following investigations it was observed the interrelation from phylogenetic point of view with a strain isolated in China, respectively with a PCV2 strain isolated from the same area in wild boar. In PRRSV sequences case it was noticed their interrelation with isolated strains from the same area, in domestic pigs.



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICIE
IMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



USAMV Iași

The histopathological examination highlighted specific lesions to chronic form for both infections, confirmed serologically by Real-Time PCR, too to a herd which developed a PRRSV episode and eradication measures were not followed at the time of the outbreak discovery (chapter VII).

The correlation of infection of porcine circovirus type 2 and of porcine reproductive and respiratory syndrome virus is tackled in Chapter VIII and the most interesting aspect is the presence of double infection with PCV2 and PRRSV in a clinically healthy livestock which is explained in PCV2 case by a sub-clinical infection (in which specific antibodies have been identified concomitantly with antigen detection in tissues), and a PRRSV persistent infection which caused only a weak response of neutralizing antibodies and lack of virus elimination from tissues during ample viral replication.

The double infection with PCV2 and PRRSV was also highlighted in an outbreak of PRRSV and possibly the etiologic agent to have acted first to have been PCV2 due to its immunosuppressive effect. In conclusion, this double PCV2 and PRRSV infection can be found in both livestock which shows clinical manifestation and unapparent ones; and by conducting regular tests (Real-Time PCR) for the two infections contributes to the control of new episodes outbreaks.