



Тваринництво, ветеринарна медицина

УДК 619:616.98-036,22-078:
578.82/.83[PCV-2]:577.2.
08:636.4
© 2021

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПРОДУКЦІЇ СВИНАРСТВА ЩОДО НАЯВНОСТІ ЦВС-2

Н.Г. Рудова¹, О.Ю. Лиманська², В.І. Болотін³, Ю.К. Дунаєв⁴,
О.С. Солодянкін⁵, А.П. Герілович⁶

^{1,3,4}кандидати ветеринарних наук

²доктор біологічних наук

⁵кандидат біологічних наук

⁶доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН
ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна

e-mail: ¹rudovanatawa@ukr.net, ²olgaliman@ukr.net, ³vbolotin@hotmail.de,
⁴dunaev2975@gmail.com, ⁵olexii.solod@gmail.com, ⁶antger2011@gmail.com
ORCID: ¹0000-0002-9759-0558, ²0000-0002-6022-0342, ³0000-0001-9875-6639,
⁴0000-0001-7378-430X, ⁵0000-0002-8698-0390, ⁶0000-0002-3280-4172

Надійшла 6.08.2021

Мета. Провести молекулярно-генетичні дослідження продукції свинарства, зокрема, печінки, що реалізують на продуктових ринках м. Харків, щодо наявності геномного матеріалу цирковірусу свиней типу 2 (ЦВС-2). **Методи.** Екстракцію сумарної нуклеїнової кислоти, зокрема ДНК ЦВС-2, із гомогенату печінки, транспортованої до лабораторії на льоду, здійснювали за стандартною методикою. Детекцію генетичного матеріалу ЦВС-2 проводили способом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у стандартному форматі з використанням системи праймерів PCV-2 F/R, які обмежували фрагмент гена гер, що кодує репліказу вірусу, довжиною 408 – 421 пар нуклеотидів (п.н.), на ампліфікаторі Biometra TAdvanced. Для визначення довжини продуктів ампліфікації використовували маркери молекулярної маси з дискретністю 25 – 700 п.н. Для візуалізації результатів ампліфікації застосовували метод горизонтального гель-електрофорезу з наступним фотографуванням 1,5 %-х гелів з використанням програмного забезпечення Image Lab 5.2.1. **Результати.** Установлено, що 62,5 % досліджуваних зразків печінки, отриманої від клінічно здорових свиней, містять ДНК ЦВС-2, що свідчить про потребу посилення контролю за поширенням цього вірусу серед популяції свиней на території України. **Висновки.** На основі отриманих результатів досліджень установлено, що печінка свиней є потенційно небезпечною для споживачів через уміст ЦВС-2 внаслідок можливого впливу даного вірусу на інші збудники інфекційних захворювань при попаданні в організм, а також інфікування людини, яке не можна

виключити з урахуванням відомої здатності ЦВС-2 долати видовий бар'єр. Показана необхідність проведення моніторингу продуктів свинарства, зокрема печінки, з застосуванням стандартного варіанта ПЛР.

Ключові слова: ДНК, полімеразна ланцюгова реакція, цирковірус свиней типу 2.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202109-05>

Забезпечення населення світу повноцінними екологічно чистими продуктами харчування є однією з основних проблем глобалізації. Серед найважливіших показників якості життя населення — рівень споживання м'яса і м'ясних продуктів [1], якість та безпечність яких впливає на здоров'я споживачів та є відповідальністю держави. Саме тому Генеральна Асамблея ООН у 2018 р. оголосила 7 червня Всесвітнім днем безпечності продуктів харчування.

Свинина — другий за популярністю вид м'яса в Україні (після курятини), який є легкозасвоюваним і доступним у продажу, характеризується високим вмістом вітамінів групи В, містить низку мікро- та макроелементів, потрібних для нормального розвитку організму людини [2].

Найбільші обсяги виробництва свинини в Україні зареєстровано у господарствах Київської, Донецької, Дніпропетровської, Запорізької та Харківської областей. Основними каналами реалізації м'яса свиней, виробленого в господарствах населення, залишаються м'ясопереробні підприємства, продовольчі та стихійні ринки [1]. Свинина та продукція свинарства, які не проходять належний ветеринарно-санітарний контроль, можуть бути небезпечними [3–7].

М'ясо та м'ясні продукти є джерелом численних бактерій (*Salmonella enterica*), найпростіших (*Toxoplasma gondii*) та глистів (*Trichinella spiralis*), які можуть спричинити значні захворювання у людей [8–11]. Крім того, свинина та продукція свинарства можуть бути резервуаром і джерелом харчової трансмісії різних вірусів: гепатиту Е, цирковірусу свиней типу 2 (ЦВС-2), анелловірусів, парвовірусу [12–14].

Здатність інфікувати людину для парвовірусу та анелловірусів нині не доведено [12, 15].

Вірус гепатиту Е (ВГЕ) є глобальною проблемою охорони здоров'я у країнах

Європи, яка стосується не тільки людей, а й тварин і навколишнього середовища [16, 17]. ВГЕ найчастіше виявляють у свинячій печінці, рідше — у м'ясі та м'ясних продуктах, переважно у ковбасах [18–20]. В Японії описано випадки фульмінантного гепатиту Е в осіб, які не мали контакту з хворими на гепатит Е і не виїжджали в регіони, ендемічні з цієї інфекції, проте вживали в їжу недостатньо просмажене м'ясо та свинячу печінку [21]. Крім того, внутрішні органи свиней з більшою ймовірністю, ніж свинина, можуть містити генетичний матеріал вірусів, що свідчить про вищий ризик передачі ВГЕ саме із вживанням субпродуктів [22].

ЦВС-2, який є надзвичайно поширеним серед поголів'я свиней та, крім того, здатний виявляти імуносупресивний вплив на організм тварини, підвищує ризик зараження печінки ВГЕ під час забою [23].

Прямої доказів щодо інфікування людей ЦВС-2 під час побутових контактів з продуктами тваринного походження [24] не існує, проте цей вірус здатний інфікувати *in vitro* лейкоцити людини [25], клітини Rd (ембріональна рабдоміосаркома людини) [26], а також епітеліальні клітини та фібробласти людини [27]. Можливою є міжвидова передача вірусу, включаючи домашніх і диких тварин (наприклад, при згодовуванні сирого м'яса або субпродуктів) [28], що полегшує вірусну адаптацію і, отже, збільшує діапазон можливих хазяїв. Антитіла до цирковірусу свиней виявлено у мишей, великої рогатої худоби та людини [29]. Все це створює певні ризики та викликає занепокоєння, оскільки руйнівні епідемії, які часом загрожують життю (наприклад, COVID-19 та пандемічний грип), спричинені вірусами, які подолали міжвидовий бар'єр.

Мета досліджень — провести ПЛР-скринінг продукції свинарства, зокрема, печінки, щодо наявності генетичного матеріалу ЦВС-2.

Матеріали та методи досліджень. Для дослідження використовували зразки печінки свиней ($n=16$), придбані на продуктових ринках м. Харкова. Невеликі шматочки печінки відбирали в окремі поліетиленові пакети, маркували їх і транспортували на льоду до лабораторії. Дослідження зразків щодо наявності ДНК ЦВС-2 проводили згідно з методикою, адаптованою у лабораторії молекулярної діагностики ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» [30].

Екстракцію сумарної нуклеїнової кислоти проводили за допомогою комерційного набору для універсальної пробопідготовки «Агросорб» виробництва «Агроген» (Україна). Зразки виділеної сумарної нуклеїнової кислоти відразу після екстракції з тканинного матеріалу використовували як матрицю для постановки ПЛР. Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі Biometra TAdvanced (Німеччина) з використанням базового набору «Maxima Hot Start Green PCR Master Mix» виробництва Thermo Scientific (Литва) та системи праймерів PCV-2 F/R, які фланкували ділянку гена реплікази *rep* ЦВС-2, згідно з протоколом:

- 1-й крок: денатурація — 94°C — 2 хв — 1 цикл;
- 2-й крок: денатурація — 94°C — 30 с, відпал — 60°C — 30 с, синтез — 72°C — 30 с; усього — 40–45 циклів;
- 3-й крок: елонгація — 72°C — 4 хв — 1 цикл.

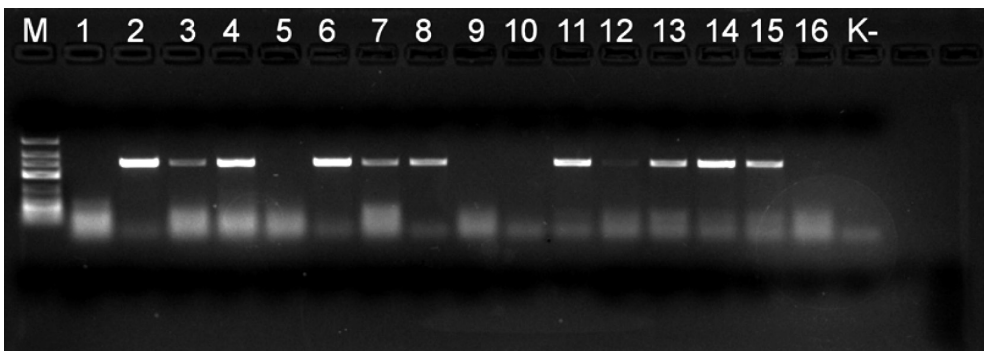
Довжина шуканого амплікону становила 408–421 пар нуклеотидів (п. н.).

Ідентифікацію ПЛР-продуктів проводили методом горизонтального електрофорезу (камера для горизонтального електрофорезу фірми Biorad, США) у 1,5 %-му агарозному гелі за напруженості електричного поля 12 В/см упродовж 40 хв. Для визначення довжини досліджуваних фрагментів використано маркери молекулярної маси виробництва Thermo Scientific з дискретністю 25–700 п.н. Документування результатів ампліфікації здійснювали за допомогою програми для фотографування гелів Image Lab 5.2.1 і транслюмінатора BioRad Universal Hood II.

Результати досліджень та їх обговорення. Зважаючи на те, що контроль за якістю та безпекою усієї продукції, що реалізується на ринку, обов'язково здійснює державна лабораторія ветеринарно-санітарної експертизи, то тварини, зразки печінки яких досліджували, були клінічно здоровими.

За результатами проведеного ПЛР-скринінгу печінки було встановлено наявність генетичного матеріалу ЦВС-2 у 10-ти зразках, що становить 62,5 % від загальної кількості досліджених зразків (рисунок, зразки № 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 13, 14, 15).

Результати досліджень різноманітного біологічного матеріалу, отриманого від свиней різного віку та з різним статусом здоров'я, проведені упродовж останніх 15-ти років, свідчать про широкий тропізм ЦВС-2. Наявність цього вірусу в організмі свиней встановлювали, використовуючи, наприклад, патогістологію, імуногістологію, гібридизацію *in situ*, різні формати ПЛР та



Візуалізація результатів ампліфікації фрагмента геномної ДНК ЦВС-2, екстрагованої із гомогенатів печінки клінічно здорових свиней: 1–16 — зразки екстрагованої ДНК; М — маркер молекулярної маси; К — негативний контроль ампліфікації

досліджуючи сироватку крові тварин, слину, сечу, фекалії, лімфоепітеліальні тканини, легені, селезінку, нирки, печінку та ін. [31–33]. Причому у печінці, поряд з тимусом, селезінкою та лімфатичними вузлами, спостерігали найбільш тривалу (до 125-ти діб) персистенцію ЦВС-2.

Свиняча печінка як продукт харчування користується попитом у споживачів не тільки завдяки смаковим якостям, а й харчовим цінностям: високому вмісту вітамінів (насамперед, групи В, а також вітамінів А, D, Е, К), незамінних амінокислот, макро- та мікроелементів. Печінку рекомендують вживати хворим на атеросклероз, недокрив'я, діабет. Тому її потенціал як природного резервуара інфекції, зокрема гепатиту Е, залишається в центрі уваги фахівців [34], оскільки вживання недостатньо термічно обробленої свинячої печінки може сприяти передачі вірусу по харчовому ланцюгу.

Основним чинником, який впливає на динаміку та характер зараження ВГЕ, є коінфекція імуносупресивними агентами [35, 36], до числа яких належить, зокрема, ЦВС-2. Застосуванням різних форматів ПЛР генетичний матеріал ЦВС-2 було детектовано, наприклад, у носових ходах низки працівників свиноферм і боєнь [37]. До того ж встановлено можливість контамінації вакцин ДНК ЦВС-2, що знижує їх якість і рівень безпечності для людей [38].

Нині не існує доказів інфікування людей ЦВС-2. Вірус не належить до низки так званих класичних патогенів харчового походження, як, наприклад, норо- або аденовіруси. Проте, результати досліджень дають підстави для посилення контролю за поширенням ЦВС-2 на території України, зокрема способом проведення молекулярно-генетичного моніторингу продуктів свинарства.

Висновки

На основі отриманих результатів досліджень встановлено, що печінка свиней, що надходить у продаж на ринки м. Харків, містить генетичний матеріал ЦВС-2. Це робить її потенційно небезпечною для вживання внаслідок можливого

впливу вірусу на інші інфекційні агенти у разі потрапляння в організм людини. Існує потреба у здійсненні молекулярно-генетичного моніторингу продуктів свинарства, які потрапляють на реалізацію.

Rudova N.¹, Lymanska O.², Bolotin V.³, Dunaiev Yu.⁴, Solodianskin O.⁵, Herilovych A.⁶.

NSC «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», 83 Pushkinska Str., Kharkiv, 61023, Ukraine; e-mail: ¹rudovanatawa@ukr.net, ²olgaliman@ukr.net, ³vbolotin@hotmail.de, ⁴dunaiev2975@gmail.com, ⁵olexii.solod@gmail.com, ⁶antger2011@gmail.com; ORCID: ¹0000-0002-9759-0558, ²0000-0002-6022-0342, ³0000-0001-9875-6639, ⁴0000-0001-7378-430X, ⁵0000-0002-8698-0390, ⁶0000-0002-3280-4172

Molecular genetic analysis of products of swine breeding on the presence of CVS2

Goal. To conduct molecular genetic studies of products of swine breeding, in particular, liver, sold in the food markets of Kharkiv, for the presence of genomic material of porcine circovirus type 2 (CVS2). **Methods.** Extraction of total nucleic acid, in particular CVS2 DNA, from liver homogenate, transported to the laboratory on ice was performed according to standard methods. Detection of CVS2

genetic material was performed by polymerase chain reaction (PCR) in a standard format using the PCV2 F/R primer system, which limited the rep gene fragment which encodes the virus replicase, with a length of 408–421 nucleotide pairs (n.p.), on an amplifier Biometer TAdvanced. Molecular weight markers with a resolution of 25 to 700 n.p. were used to determine the length of the amplification products. To visualize the results of amplification, the method of horizontal gel-electrophoresis was used, followed by photographing 1.5% gels using Image Lab software 5.2.1. **Results.** It was found that 62.5% of the studied liver samples obtained from clinically healthy pigs contain CVS2 DNA, which indicates the need to strengthen control over the spread of this virus among the pig population in Ukraine. **Conclusions.** Based on the results of research, it is established that the liver of pigs is potentially dangerous for consumers because of the presence of CVS2 due to the possible impact of this virus on other infectious agents when ingested, as well as human infection, which can not be excluded

given the known ability of CVS2 to overcome species barrier. The necessity of monitoring pig products, in particular liver, using a standard PCR variant is shown.

Key words: DNA, polymerase chain reaction, porcine circovirus type 2.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agroviznyk202109-05>

Бібліографія

1. Дмитрук Б.П., Клименко Л.В. Виробничий цикл у галузі свинарства: національний та світовий досвід: монографія. Київ: ЗАТ «Нічлава», 2006. 200 с.
2. Секторальна стратегія свинарства: Асоціація свинарів України. 2020. С. 1–34.
3. Кім А.А., Михайлютенко Р.М., Кручиненко О.В. та ін. Деякі показники якості та безпечності м'яса та м'ясопродуктів. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2018. № 4. С. 158–162. doi:10.31210/viznyk2018.04.24
4. Котелевич В.А., Федотов В.Р. Щодо визначення якості й безпеки м'яса та м'ясопродуктів на ринках Житомирщини. *Ветеринарна медицина України*. 2010. № 8. С. 10–14.
5. Кравців Р., Козак М. Ветеринарно-санітарна експертиза м'яса: навчальний посібник. Львів: Трида плюс, 2004. 232 с.
6. Єфімова О.М., Касянчук В.В. Аналіз даних про мікробіологічні ризики в імпортованій до України продукції тваринного походження. *Ветеринарна медицина України*. 2013. № 11. С. 30–32.
7. Kotelevich V. A. Veterinary and sanitary assessment of food quality and safety in Zhytomyr region. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2017. V. 19. № 78. P. 58–61. doi:10.15421/nvlvet7812
8. Cibulski S., Alves de Lima D., Fernandes dos Santos H. et al. A plate of viruses: Viral metagenomics of supermarket chicken, pork and beef from Brazil. *Virology*. 2021. V. 552. P. 1–9. doi:10.1016/j.virol.2020.09.005
9. Палій А.П., Родіонова К.О., Палій А.П. Контамінація м'яса тварин і птиці та засоби її зниження. *Food Science and Technology*. 2017. V. 11. № 4. doi:10.15673/fst.v11i4.732
10. Gisbert Algaba I., Verhaegen B., Jennes M. et al. Pork as a source of transmission of *Toxoplasma gondii* to humans: a parasite burden study in pig tissues after infection with different strains of *Toxoplasma gondii* as a function of time and different parasite stages. *International J. for Parasitology*. 2018. V. 48. № 7. P. 555–560. doi:10.1016/j.ijpara.2017.12.009
11. John A., Filter M., Gayda J. et al. Survival of *Trichinella spiralis* in cured meat products. *Veterinary Parasitology*. 2020. V. 287. P. 109260. doi:10.1016/j.vetpar.2020.109260
12. Zhang W., Li L., Deng X. et al. What is for dinner? Viral metagenomics of US store bought beef, pork, and chicken. *Virology*. 2014. V. 468. P. 303–310. doi:10.1016/j.virol.2014.08.025
13. Wenzel J. J., Preiss J., Schemmerer M. et al. Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. *J. of Clinical Virology*. 2011. V. 52. № 1. P. 50–54. doi: 10.1016/j.jcv.2011.06.006
14. Harrison L., Ramos T. D. M., Wu X., DiCaprio E. Presence of hepatitis E virus in commercially available pork products. *International J. of Food Microbiology*. 2021. V. 339. P. 109033. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109033
15. Cebriá-Mendoza M., Arbona C., Larrea L. et al. Deep viral blood metagenomics reveals extensive anellovirus diversity in healthy humans. *Scientific Reports*. 2021. V. 11. № 1. P. 6921. doi:10.1038/s41598-021-86427-4
16. Ferri G., Vergara A. Hepatitis E Virus in the Food of Animal Origin: A Review. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2021. V. 18. № 6. P. 368–377. doi:10.1089/fpd.2020.2896
17. Hoofnagle J.H., Nelson K.E., Purcell R.H. Hepatitis E. *New England J. of Medicine*. 2012. V. 367. № 13. P. 1237–1244. doi:10.1056/NEJMra1204512
18. Pavo N., Doceul V., Bagdassarian E., Johne R. Recent knowledge on hepatitis E virus in Suidae reservoirs and transmission routes to human. *Veterinary Research*. 2017. V. 48. № 1. P. 78. doi:10.1186/s13567-017-0483-9
19. Boxman I. L. A., Jansen C. C. C., Hägele G. et al. Monitoring of pork liver and meat products on the Dutch market for the presence of HEV RNA. *International J. of Food Microbiology*. 2019. № 296. P. 58–64. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.018
20. Boxman I. L. A., Jansen C. C. C., Zwartkruis-Nahuis A. J. T. et al. Detection and quantification of hepatitis E virus RNA in ready to eat raw pork sausages in the Netherlands. *International J. of Food Microbiology*. 2020. V. 333. P. 108791. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108791
21. Li T.-C., Chijiwa K., Sera N., Ishibashi T. et al. Hepatitis E Virus Transmission from Wild Boar Meat. *Emerging Infectious Diseases*. 2005. V. 11. № 12. P. 1958–1960. doi: 10.3201/eid1112.051041
22. Geng Y., Zhao C., Guo T. et al. Detection of Hepatitis E Virus in Raw Pork and Pig Viscera As Food in Hebei Province of China. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2019. V. 16. № 5. P. 325–330. doi:10.1089/fpd.2018.2572
23. Salines M., Dumarest M., Andraud M. et al. Natural viral co-infections in pig herds affect

- hepatitis E virus (HEV) infection dynamics and increase the risk of contaminated livers at slaughter. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2019. V. 66. № 5. P. 1930–1945. doi:10.1111/tbed.13224
24. Ellis J. A., Wiseman B. M., Allan G. et al. Analysis of seroconversion to porcine circovirus 2 among veterinarians from the United States and Canada. *J. of the American Veterinary Medical Association*. 2000. V. 217. № 11. P. 1645–1646. doi:10.2460/javma.2000.217.1645
25. Arteaga-Troncoso G., Guerra-Infante F., Rosales-Montaño L. M. et al. Ultrastructural alterations in human blood leukocytes induced by porcine circovirus type 1 infection. *Xenotransplantation*. 2005. V. 12. № 6. P. 465–472. doi:10.1111/j.1399-3089.2005.00249.x
26. Hattermann K., Roedner C., Schmitt C. et al. Infection studies on human cell lines with porcine circovirus type 1 and porcine circovirus type 2. *Xenotransplantation*. 2004. V. 11. № 3. P. 284–294. doi: 10.1111/j.1399-3089.2004.00134.x
27. Liu X., Ouyang T., Ouyang H. et al. Human cells are permissive for the productive infection of porcine circovirus type 2 in vitro. *Scientific Reports*. 2019. V. 9. № 1. P. 5638. doi:10.1038/s41598-019-42210-0
28. Zhai S.-L., Lu S.-S., Wei W.-K. et al. Reservoirs of Porcine Circoviruses: A Mini Review. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019. V. 6. P. 319. doi:10.3389/fvets.2019.00319
29. Tischer I., Bode L., Apodaca J. et al. Presence of antibodies reacting with porcine circovirus in sera of humans, mice, and cattle. *Archives of Virology*. 1995. V. 140. № 8. P. 1427–1439. doi:10.1007/BF01322669
30. Стегній Б.Т., Герілович А.П., Завгородній А.І. та ін. Молекулярно-генетичні методи діагностики у ветеринарній медицині та біотехнології; за ред. Б.Т. Стегнія, А.П. Геріловича. Київ: СТ-Друк, 2014. 285 с.
31. Reiner G., Bronnert B., Hohloch C. et al. Qualitative and quantitative distribution of PCV2 in wild boars and domestic pigs in Germany. *Veterinary Microbiology*. 2010. V. 145. № 1–2. P. 1–8. doi:10.1016/j.vetmic.2010.02.028
32. Xiao C.-T., Harmon K.M., Halbur P.G., Opriessnig T. PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the U.S. during 2014–2016. *Veterinary Microbiology*. 2016. V. 197. P. 72–77. doi:10.1016/j.vetmic.2016.11.009
33. Segales J., Calsamiglia M., Olvera A. et al. 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). *Veterinary Microbiology*. 2005. V. 111. № 3–4. P. 223–229. doi:10.1016/j.vetmic.2005.10.008
34. Wilhelm B., Fazil A., Rajić A. et al. Risk Profile of Hepatitis E Virus from Pigs or Pork in Canada. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2017. V. 64. № 6. P. 1694–1708. doi: 10.1111/tbed.12582
35. Salines M., Andraud M., Rose N. From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review. *Veterinary Research*. 2017. V. 48. № 1. P. 31. doi:10.1186/s13567-017-0436-3
36. Cossaboom C. M., Heffron C. L., Cao D. et al. Risk factors and sources of foodborne hepatitis E virus infection in the United States: Risk Factors and Sources of Foodborne Hepatitis E. *J. of Medical Virology*. 2016. V. 88. № 9. P. 1641–1645. doi:10.1002/jmv.24497
37. Borkenhagen L.K., Mallinson K.A., Tsao R.W. et al. Surveillance for respiratory and diarrheal pathogens at the human-pig interface in Sarawak, Malaysia. *PLOS ONE*. 2018. V. 13. № 7. P. e0201295. doi:10.1371/journal.pone.0201295
38. Gilliland S. M., Forrest L., Carre H. et al. Investigation of porcine circovirus contamination in human vaccines. *Biologicals*. 2012. V. 40. № 4. P. 270–277. doi:10.1016/j.biologicals.2012.02.002