



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

Департман за ветеринарску медицину



**Бојан Вујић**

ДИПЛ.ВЕТ.

**Серопреваленција инфекција свиња изазваних  
цирковиром тип-2 на подручју Војводине**

Мастер рад

**Нови Сад, 2018.**



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

Департман за ветеринарску медицину



Ментор:  
Доц. др Огњен Стеванчевић

Кандидат:  
дипл. вет. Бојан Вујић

**Серопреваленција инфекција свиња изазваних  
цирковиром тип-2 на подручју Војводине**

Мастер рад

**Нови Сад, 2018.**

**КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ МАСТЕР РАДА:**

**Др Огњен Стеванчевић, доцент, (ментор)**

*Ужа научна област: Болести животиња и хигијена анималних  
производа*

**Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду  
Департман за ветеринарску медицину**

---

**(потпис)**

**Др Божидар Савић, доцент,**

*Ужа научна област: Болести животиња и хигијена анималних  
производа*

**Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду  
Департман за ветеринарску медицину**

---

**(потпис)**

**Др Александар Поткоњак, доцент,**

*Ужа научна област: Ветеринарска микробиологија и заразне болести*

**Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду  
Департман за ветеринарску медицину**

---

**(потпис)**

## САДРЖАЈ

<b>1. УВОД</b> .....	1
<b>2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ</b> .....	4
2.1. ИСТОРИЈАТ .....	4
2.2. ЕТИОЛОГИЈА .....	5
2.3. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА .....	7
2.4. ПАТОГЕНЕЗА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА СВИЊА .....	10
2.5. КЛИНИЧКА СЛИКА И ПАТОМОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ .....	14
2.5.1. Клиничка слика и патоморфолошке промене PMWS-а .....	14
2.5.2. Клиничка слика и патоморфолошке промене PDNS-а .....	15
2.5.3. Клиничка слика и патоморфолошке промене код ентеритиса чији је узрок PCV2 .....	17
2.5.4. Клиничка слика и патоморфолошке промене пнеумоније повезане са PCV2 .....	17
2.5.5. Клиничка слика и патоморфолошке промене код репродуктивних сметњи повезаних са PCV2 .....	17
2.6. ИМУНИТЕТ .....	19
2.6.1. Хуморални имуни одговор .....	19
2.6.2. Целуларни имуни одговор .....	20
2.7. ДИЈАГНОСТИКА .....	21
2.7.1. Утврђивање присуства инфекције на основу клиничких и патоморфолошких промена .....	21
2.7.2. Диференцијална дијагностика PCV2 инфекције .....	23
2.7.3. Лабораторијска дијагностика PCV2 инфекције .....	23
2.7.4. Детекција PCV2 антитела .....	24
2.8. КОНТРОЛА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА .....	25
2.9. ИМУНОПРОФИЛАКСА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА .....	28
2.9.1. Имунопрофилактика крмача и назимица .....	29
2.9.2. Имунопрофилактика прасади .....	30
<b>3. ЦИЉЕВИ И ЗАДАЦИ</b> .....	31
<b>4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ</b> .....	32
4.1. ОГЛЕДНЕ ЖИВОТИЊЕ .....	32
4.2. УЗОРКОВАЊЕ КРВИ .....	33

4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИТЕЛА СПЕЦИФИЧНИХ ЗА РСV2 ИНДИРЕКТНОМ ELISA МЕТОДОМ - INGEZIM CIRCO IgG (Ингенаса, Шпанија) .....	34
<b>5. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	<b>36</b>
<b>6. ДИСКУСИЈА</b> .....	<b>38</b>
<b>7. ЗАКЉУЧАК</b> .....	<b>40</b>
<b>8. ЛИТЕРАТУРА</b> .....	<b>41</b>

## **СЕРОПРЕВАЛЕНЦИЈА ИНФЕКЦИЈА СВИЊА ИЗАЗВАНИХ ЦИРКОВИРУСОМ ТИП-2 НА ПОДРУЧЈУ ВОЈВОДИНЕ**

### **РЕЗИМЕ**

Циљ овог истраживања био је да се утврди серопреваленција инфекција изазваних са PCV2 код различитих категорија свиња на подручју Војводине. Испитивање је рађено на 6 фарми свиња са различитих локација на подручју Војводине (по две фарме са територије Бачке, Баната и Срема), капацитета од 500 до 2500 крмача, са интензивним начином држања затвореног типа. Узорци пуне венске крви од 540 испитиваних свиња узети су од три различите категорије свиња: прасади на сиси (између 3-4 недеље живота), прасади у одгоју (између 8-9 недеље), и товљеници (између 20 и 22 недеље живота). Специфична анти PCV2 антитела одређена су применом индиректне ELISA методе. На основу наших резултата може се закључити да су PCV2 инфекције широко распрострањене на подручју Војводине, са укупном серопревалнцијом од 74.8%. Највеће вредности серопреваленције утврђене су у категорији товљеника 86%, затим код прасади на сиси 74.5%, док је код прасади у одгоју серопреваленција износила 65.3%.

Кључне речи: PCV2, серопреваленција, свиња, антитела

## **SEROPREVALENCE OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE-2 INFECTION IN THE AREA OF VOJVODINA**

### **ABSTRACT**

The aim of this research was to determine seroprevalence of infection caused by PCV2 in different categories of pigs on the territory of Vojvodina. The research was conducted on 6 pig farms placed in different locations on the territory of Vojvodina (two farms from the territory of Bačka, Banat and Srem, respectively), with the capacity from 500 to 2500 sows, with intensive management and closed type. Blood samples from brachiocephalic plexus were collected from 540 pigs in three different categories, in suckling piglets between 3 and 4 weeks of age, in weaned piglets from 8 to 9 weeks of age, and in fattening pigs between 20 and 22 weeks of age. Specific anti-PCV2 antibodies are determined by using indirect ELISA. Based on our results, we conclude that PCV2 infections are widely spread on the territory of Vojvodina, with total seroprevalence of 74,8%. The highest value of seroprevalence is determined in category of fattening pigs 86%, in suckling piglets this was 74.5%, while in weaned piglets seroprevalence was 65.3%.

Key words: PCV2, seroprevalence, pig, antibody

## 1. УВОД

Свињски цирковирус тип 2 (*Porcine circovirus type 2* - PCV2) је један од најраспрострањенијих патогена у популацији свиња широм света који проузрокује значајне економске штете у комерцијалној производњи. Припада фамилији *Circoviridae* и роду *Circovirus*. Карактеристике га мала величина (~1800 ВР), кружни геном, и отпорност на факторе спољашње средине (инфективан и после излагања температури од 60°C у трајању од 30 минута). Постоје два фенотипски и генетски различита типа - свињски цирковирус тип 1 (*Porcine circovirus type 1*; PCV1) и свињски цирковирус тип 2 (*Porcine circovirus type 2*; PCV2). Тип 1 се сматра непатогеним док је тип 2 означен као онај који проузрокује комплекс болести. До данас су, на основу добијених резултата испитивања више аутора која су се односила на карактеристике генома вируса, описана четири генотипа свињског цирковируса тип 2, односно генотипови PCV2a, PCV2b, PCV2c, PCV2d и PCV2e.

Након иницијалног идентификовања свињског цирковируса (PCV) 1974. године (*Tischer, 1974*) као контаминента ћелија бубрега свиња (ПК-15), серопревалнеција свињског цирковируса је утврђена у неколико држава: Немачка (*Tischer, 1986*), Канада (*Dulac, 1989*), Енглеска (*Edwards, 1994*), и Сједињене Америчке Државе (САД) (*Hines, 1995*). У овом периоду утврђена је само широка распрострањеност свињског цирковируса, али тестовима који су били у употреби није било могуће утврдити да ли се ради о PCV1 или PCV2. Крајем двадесетог века постали су доступни тестови помоћу којих је било могуће разликовати непатогени тип 1 и патогени тип 2, те је утврђено присуство PCV2 широм света. Сматра се да је у општој популацији свиња највеће присуство генотипова PCV2a и PCV2b (*Segales, 2008*).

У односу на присутност мултисистемског заостајања прасади након залучења (*Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome* - PMWS), Европске земље се данас могу



поделити у 5 различитих категорија (Segales., 2007). Наша земља се налази у трећој категорији којој припадају земље које су пријавиле присуство PMWS-a, али нема података на основу којих се може установити значај обољења у њиховим популацијама свиња.

На основу досадашњих научних сазнања, за болести свиња повезаних са PCV2 вирусом не постоји јединствена и коначна дефиниција јер још нису у потпуности познати и анализирани сви њихови најважнији фактори. Болести повезане са овим вирусом могу се испољити у неколико различитих клиничких и морфолошких облика. Најчешћи је у облику системске болести - синдром мултисистемског слабљења прасади након залучења (PMWS) и синдром дерматитис нефропатија свиња (*Porcine dermatitis nephropathy syndrome*; PDNS). Уз наведене болести, цирковирус свиња тип 2 се доводи у директну везу са репродуктивним, респираторним и пробавним поремећајима.

Прецизна терминологија цирковирусне инфекције није у потпуности утврђена. Многи аутори данас користе термин PCV2-SD (PCV2 системско обољење) уместо термина PMWS, цирковироза свиња или системско обољење проуроковано са PCV2.

Обољење се може јавити код свих старосних категорија али најчешће оболевају прасад, односно свиње узраста 7 до 15 недеља. Инфекција може протичати уз изражене клиничке симптоме али и супклинички, што се у највећем броју случајева и дешава. Подаци о присуству специфичних антитела на PCV2 код других животињских врста и човека су опречни. Док неки аутори тврде да овај узрочник нема зоонотски карактер као и да друге врсте животиња не оболевају, други у својим истраживањима наводе да је чак једна трећина испитиваних крвних серума људи била позитивна на присуство специфичних антитела против PCV2. Извор заразе су углавном болесне свиње, а клиничке манифестације зависе од тога који је систем органа захваћен, што се не може предвидети. Вирус се шири како хоризонтално између заражених и здравих животиња, тако и вертикално са инфициране мајке на потомство.

PMWS се може означити као најзначајнија последица инфекције овим вирусом јер су економски губици изузетно велики. Према анализама појединих стручњака сматра се да директни и индиректни трошкови у току једне године на нивоу Европске Уније

(ЕУ), износе и до 600 милиона евра (*Armstrong i Bishop, 2004*), док се у САД ова цифра креће у просеку 3-4 долара по грлу. Губици настају због заостајања у порасту прасади и товљеника те се продужава време потребно за достизање кланичне тежине (*Gillespie, 2009*).

Контрола инфекције овим вирусом је изузетно сложена. С обзиром на то да је употреба антимикуробних лекова контраиндикована, предност се даје елиминацији "окидача" инфекције (микоплазми, *Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome virus* - PRRSv, *Actinobacillus pleuropneumoniae* - APP-a), као и спровођењу адекватних биосигурносних мера. Међутим, поред свега наведеног, може се сматрати да имунопрофилактика у смислу примене одговарајућих вакцина има најзначајнију улогу у контроли ове групе обољења.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. ИСТОРИЈАТ

Године 1974. описан је нови, нецитопатогени, пикорнавирусу сличан контаминент у ћелијској култури ПК-15 свињског бубрега. Овај агенс се касније показао као мали вирус без омотача, који садржи кружни геном, и назван је свињски цирковирус (PCV). Утврђено је да су антитела против овог вируса присутна у широкој популацији свиња, а експериментална инфекција није довела до клиничке манифестације болести, што је указивало на то да је свињски цирковирус непатоген.

Нова болест непознате етиологије описана је у западној Канади почетком 1990. године. Ово стање је описано као синдром мултисистемског слабљења прасади након залучења (PMWS). Код погођених свиња, пре свега прасади у прасилишту, примећен је смањен прираст и заостајање у расту и развоју у односу на здраве вршњаке. Крајем исте године изолован је нови вирус, сличан цирковирусу свиња описаном у ћелијској култури ПК-15 свињског бубрега, али антигенски и генетски различит од њега. Након тога, изолати из оболелих свиња су означени као свињски цирковирус тип 2 (PCV2), а изворни цирковирус из ћелијске културе ПК-15 свињског бубрега као свињски цирковирус тип 1 (PCV1).

Ретроспективним испитивањима утврђено је присуство PCV2 много раније, чак 60-их година прошлог века. У Табели 1. (адаптирано из цитата: *Segales, 2012*) приказан је сажетак историсјких догађаја везаних за сазнања о свињском цирковирусу.

Табела 1

Сажетак историсјих догађаја везаних за сазнања о свињском цирковирусу

Година	Догађај	Извор <sup>а</sup>
1962	Најранији ретроспективни доказ свињског цирковируса утврђен PCR методом	Jacobsen et al., 2009
1974	Накнадно назван свињски цирковирус тип 1 (PCV1), првобитно је откривен као пикорнавирусу сличан агенс у култури ћелија свињског бубрега	Tischer et al., 1974
1982	Први опис свињског цирковируса (данашњи PCV1) као малог вируса са јендоланчаним кружним геномом	Tischer et al., 1982
1985	Најранији ретроспективни доказ PCV2 системске болести	Jacobsen et al., 2009
1996	Први опис новог, спорадичног обољења названог мултисистемско слабење прасади након залучења - први случајеви утврђени у периоду од 1991 до 1994	Clark, 1996; Harding, 1996
1997	Први опис PCV2 системске болести као тешке епидемије у Европи	LeCann et al., 1997; Segalés et al., 1997
1998	Прва изолација и карактеризација PCV2	Allan et al., 1998; Ellis et al., 1998
1998	Први увид у секвенце комплетног PCV2 генома	Hamel et al., 1998; Meehan et al., 1998; Morozov et al., 1998
1997–99	Први опис PCV2 системске болести као тешке епидемије у Азији	Choi et al., 2000; Sato et al., 2000
1999	Први пут експериментално проузроковано PCV2 системско обољење и ко-инокулација са свињским парвовирусом	Allan et al., 1999
2004	Прва PCV2 вакцина досупна у Француској и Немачкој	Segalés et al., 2005
2004–05	Први опис PCV2 системске болести као тешке епидемије у Северној Америци	Carman et al., 2006
2006	Први пут вакцине доступне у Северној Америци	Opriessnig et al., 2007
2007	Вакцине постају доступне у целом свету	Chae, 2012
2008	Формални предлог номенклатуре и дефиниција генотипова PCV2 од стране ЕУ конзорцијума за PCV болести	Segalés et al., 2008

<sup>а</sup> Извор у коме је догађај описан или цитиран

## 2.2 ЕТИОЛОГИЈА

Свињски цирковируси припадају фамилији *Circoviridae*. Ова фамилија је подељена у два рода *Circovirus* и *Gyrovirus*. Роду *Circovirus* поред свињског цирковируса 1 (PCV1) и свињског цирковируса 2 (PCV2), припадају и неки од птичијих вируса као што су *Psittacine* вирус болести кљуна и перја (BFDV), канарски цирковирус, гушчји цирковирус, голубији цирковирус, цирковирус зебе и цирковирус галеба. Једини члан рода *Gyrovirus* је вирус анемије кокошака. Због геномске организације и начина репликације вируса наведених у роду *Circovirus*, познато је да имају блиску везу са биљним вирусима названим нановируси и геминивируси. Утврђено је да су цирковируси могући генетски посредник између нановируса и геминивируса (*Niagro, 1998*).

Међутим, у најновије време, таксономија *Circoviridae* је поново ревидирана због откривања нових вируса и поновног процењивања геномских особина које карактеришу чланове ове породице вируса. У актуелној ратификацији Међународног Комитета за Таксономију Вируса (ICTV, 2016. године), род *Gyrovirus* је преименован у породицу *Anelloviridae*, док су родови *Circovirus* и нови род, *Cyclovirus*, груписани заједно у породици *Circoviridae* (*Rosario, 2017*). Цикловируси су откривени 2010.

године као група вируса са веома високом сличношћу са цирковирусима, са геномским особинама које су блиско повезане с њима, а нови назив су добили како би се разликовали од цирковируса (*Delwart, 2012; Li L, 2010*).

Иако су аутори ранијих истраживања имали став да се инфекција свињским цирковирусом може јавити код људи, говеда и мишева (*Tischer, 1995; Nayar, 1999*), накнадна испитивања су показала да нема доказа о инфекцији код ових као и код других врста (*Allan, 2000a; Ellis, 2001*). Епидемиолошки значај инфекције са PCV2 код дивљих свиња није потпуно јасан (*Vicente, 2004*), али се зна да вирус може изазвати заостајање у развоју прасади након залучења и код ове врсте (*Ellis, 2003; Schulze, 2004*).

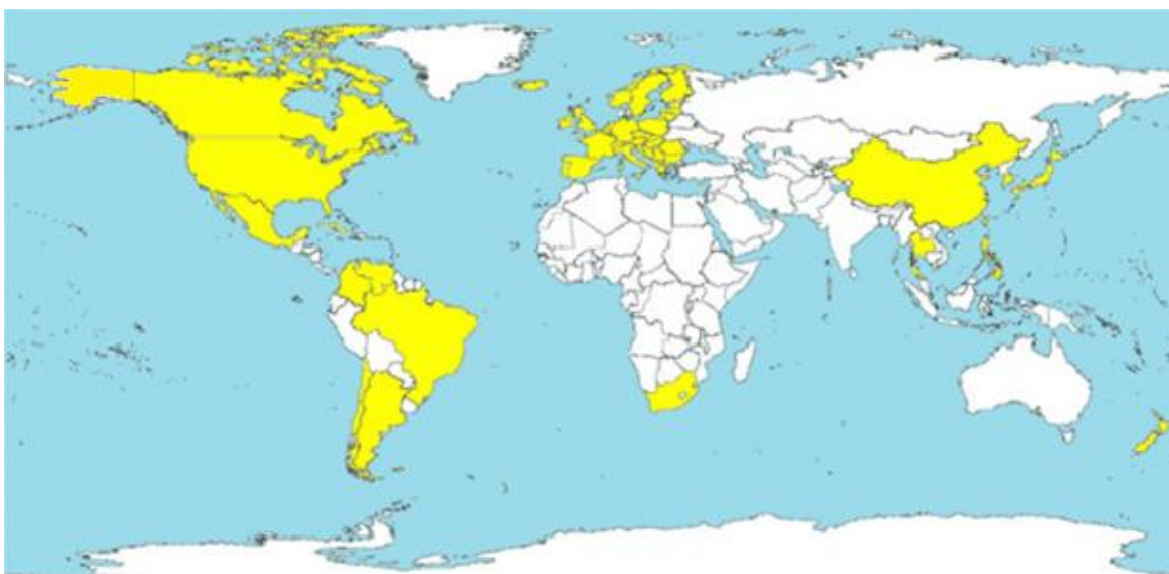
Карактеристика вируса ове фамилије јесте да немају спољашњи омотач, а поседују једноланчани кружни молекул деоксирибонуклеинске киселине (ДНК) и сферичног су облика. Вирусни капсид PCV-2 је икосаедричне симетрије, састављен од једне врсте протеина (Сар protein) и једноставног ланца ДНК, а пречник вириона износи од 17nm до 22nm. Ово су најмањи ДНК вируси способни за независну репликацију.

Познато је да постоји пет различитих генотипова PCV2, који се означавају словима а, б, ц, д, е. Генотипови а и б су распрострањени у широкој популацији свиња, док је тип ц пријављен само у Данској (*Dupont, 2008*). И поред постојања антигнских разлика, имунитет индукован једним генотипом штити организам од накнадне инфекције другим генотипом (*Opriessnig, 2008b*).

Цирковирус је отпоран у киселој средини (рН 3) и задржава стабилност око 15 минута на температури од 70°C. Иако је вирус врло резистентан на дезинфицијенсе, хлорни, јодни и формалдехидни препарати су делотворни уколико излагање траје дуже од 10 минута.

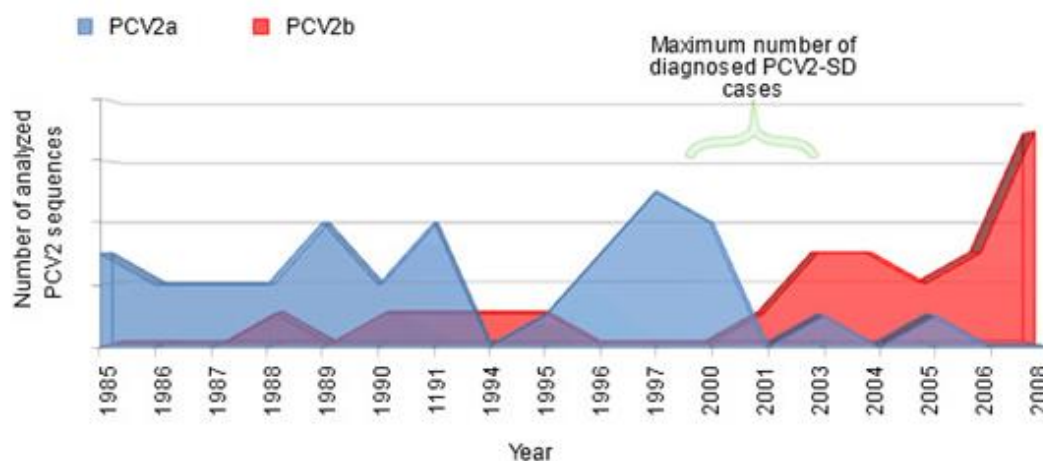
### 2.3. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

За циркулирајуће свиња се може рећи да су убиквитарни микроорганизми присутни на готово свим континентима, чак и у популацији дивљих свиња. Прва изолација PCV-2 догодила се 1998. године као резултат истраживања узрока клиничких манифестација описаних током низа година са почетком од 1991. Ове манифестације односиле су се пре свега на заостајање у порасту и повећан морталитет прасади у порасту и тову.



Слика 1.: Земље у којима је дијагностиковано PCV2-системско обољење (*Grau-Roma, 2011*)

Једноставно објашњење због чега је дошло до изненадне епидемије PCV2 не постоји, али је могуће да су томе допринели различити аспекти производње свиња као и међународна трговина. Ипак, оно што данас знамо јесте да је ова промена у преваленцији, од спорадичних случајева до масовне епидемије, повезана са смањењем учесталости генотипа PCV2a у корист генотипа PCV2b. Ово се може уочити на примеру Шпаније који је приказан на слици број 2.



Слика 2.: Утврђивање присуства PCV2a и PCV2b у Шпанији (преузето из *Cortey, Vet J*)

У односу на присутност PMWSa, Европске земље се данас могу поделити у 5 различитих категорија (*Segales., 2007*):

1. Земље у којима је утицај болести био или је још увек озбиљан или веома озбиљан. Ова категорија може бити подељена, јер је у неким земљама PMWS и даље веома значајно обољење у производњи свиња (Велика Британија, Аустрија, Ирска и Шведска), док су друге земље имале озбиљне проблеме у периоду између 1995-2003. године, али је болест данас мање евидентна (Француска, Шпанија, Португалија, Италија, Немачка, Грчка, Чешка, Мађарска, Пољска, Хрватска, Словенија и Холандија).
2. Земље у којима упркос пријављивању случајева PMWS-а ова болест не представља велики проблем или је данас одсутна (Швајцарска, Белгија и Норвешка).
3. Земље које су пријавиле присуство PMWS-а, али нема података на основу којих се може установити значај обољења у њиховим популацијама свиња (као што су Србија, Црна Гора, Бугарска, Литванија и Летонија).
4. Земље које никада нису пријавиле ову болест, као што је Финска.
5. Земље са непознатим статусом PMWS-а (Естонија, Албанија, Исланд, Македонија, Кипар, Босна и Херцеговина, Белорусија, Украјина и Молдавија).

## **Хоризонтална трансмисија**

Главни пут хоризонталног преношења вируса јесте ороназални контакт са инфицираним фецесом (*Segales, 2005a*), контакт са инфицираним урином или директно са инфицираним животињама (*Magar, 2000; Bolin, 2001*). Вирус је присутан у респираторним, оралним и уринарним секретима као и у фецесу како клинички болесних тако и инфицираних али наочиглед здравих јединки. Клинички оболеле животиње излучују вирус у већем обиму у односу на супклинички инфициране животиње (*Segales, 2005b*).

Присуство PCV-2 утврђено је и у колоструму (*Shibata, 2006*), али да ли то може довести до инфекције и даље није познато. Осим тога, вирус се може пренети на прасад конзумирањем некуваних ткива виремичних животиња (лимфатичних ткива, скелетних мишића и коштане сржи), што резултира виремијом и сероконверзијом код свих прасади (*Opriessnig, 2009*).

Директан пренос доказан је између експериментално и природно инфицираних животиња, па увођење клиничких или супклинички инфицираних животиња представља ризик за популацију свиња, док индиректан пренос путем аеросола, вакцине или оралним путем вероватно представља мањи ризик за трансмисију PCV2 инфекције.

## **Вертикална трансмисија**

Вирус се може преносити како трансплацентално тако и путем семене течности. Након интраназалне инфекције супрасних крмача 3 недеље пре прашења, утврђено је присутно PCV2 код живорођене али и код абортиране прасади (*Park, 2005; Ha, 2008*). Овај начин преношења и даље изазива несугласице међу научницима. Док једни тврде да се јавља у ретким случајевима (*Maldonado, 2005*), други износе податке да је 13% абортиране и мртворођене прасади инфицирано са PCV2 (*Kim, 2004a*). Истраживања новијег датума ипак потврђују да инфекција новорођене прасади није редак случај.

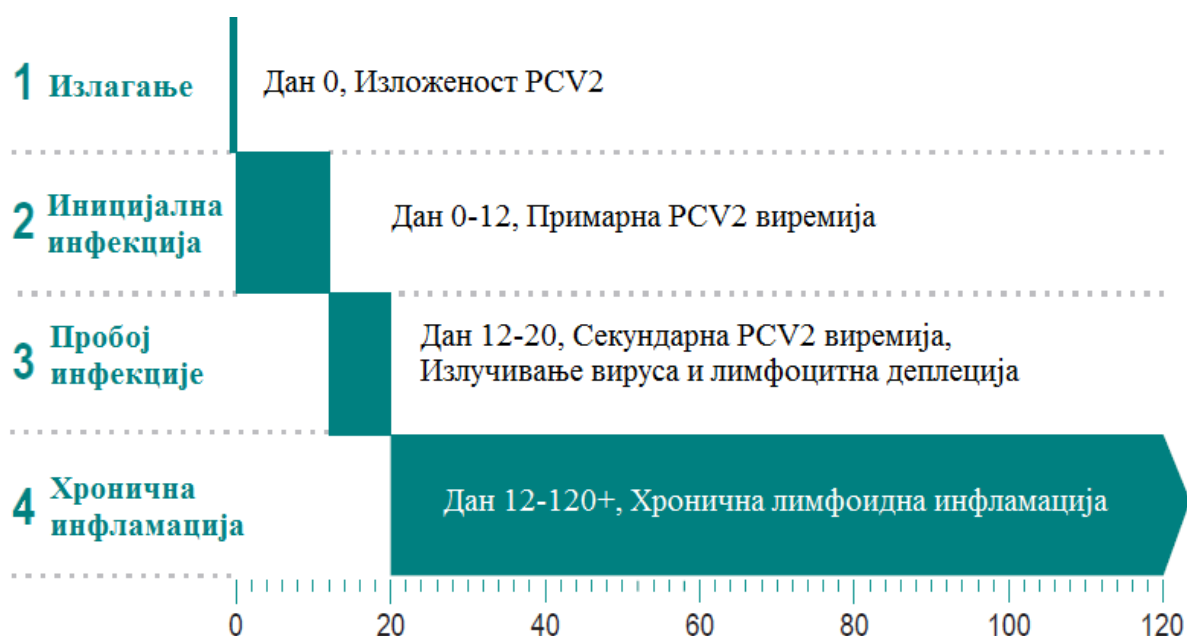
PCV2 се такође може преносити семеном нерастова. У експерименталним студијама излучивање семеном је детектовано већ петог дана након инокулације (*McIntosh, 2006*). Уочено је да природно инфицирани нерастови вирус излучују спорадично и у мањој количини (*Kim, 2003*). Перзистентно инфицирани нерастови излучују вирус до



71 недеље старости, док у семену нерастова старих 71 до 149 недеља није пронађен вирус (*McIntosh, 2006*). Такође, исти аутори тврде да вирус не утиче на број живих сперматозоида и њихову морфологију. Недавна истраживања су показала да вирус који се налази у семену не доводи до сероконверзије код вештачки осемењених назимица те да су прасад опрашена од ових назимица негативна на присуство PCV2 антитела (*Madson, 2008*).

## 2.4. ПАТОГЕНЕЗА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА СВИЊА

Патогенеза PCV2 инфекције се може описати у неколико корака: 1) излагање узрочнику, 2) иницијална инфекција, 3) пробој инфекције, 4) хронична инфламација (слика 3).



Слика 3.: Патогенеза PCV2 инфекције (преузето из Merck animal health - Tehnical services bulletin)

- 1) Изложеност - свиње су изложене PCV2 контактом са контаминираном простирком, хранилицама, појилицама, другим предметима и ваздухом. Са оболеле на здраву свињу вирус се преноси ороназалном секрецијом или фекалијама.
- 2) Иницијална инфекција која резултира примарном виремијом - PCV2 инфицира подложне лимфоците у површински лоцираном лимфном ткиву као што су тонзиле

или Пајерова плоча. На ћелијском нивоу, пријемчиви лимфоцити морају дозволити вирусу да уђе у ћелију. Такође, лимфоцити се морају активно делити како би дошло до умножавања вируса. Ово умножавање PCV2 може бити подстакнуто имуностимулацијом услед коинфекције са другим узрочницима као што су PRRSV или *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Након што се вирус умножи у довољној количини, лимфоцит пропада и ослобађа вирус у околно ткиво. Вирус улази у крвоток и лимфоток што резултира примарном вiremијом која је на толико ниском нивоу да се не може детектовати. Услед примарне вiremије вирус се шири организмом проузрокујући инфекцију лимфоцита у више лимфоидних ткива као што су лимфни чворови, слезина, јетра а могуће и коштана срж. Број инфицираних и лимфоцита који пропадају није висок, а микроскопски се не могу запазити лезије нити агрегација вируса.

3) Избијање инфекције са секундарном вiremијом - секундарна вiremија се лако може детектовати у великим бројем лимфоцита, како у узорцима са терена тако и у експерименталним студијама. Излучивање PCV2 фецесом или ороназалним секретима почиње од овог тренутка. Велики број лимфоцита пропада, што доводи до пражњења лимфоидних фоликула и смањења броја лимфоцита у лимфоидном ткиву, што се може потврдити имунохистохемијским методама. Лимфопенија прати секундарну вiremију током једне недеље. У овом периоду PCV2 инфекције велика количина вируса се налази у лимфоидном ткиву и циркулацији.

4) Хронична грануломатозна инфламација - услед апоптозе лимфоцита, организам покреће инфламаторни одговор како би мртви лимфоцити били уклоњени. Овај процес је хроничног карактера, а спроводе га ткивни макрофаги који окружују и варе мртве ћелије. Не постоје знаци раног акутног инфламаторног одговора као што су неутрофилна инфилтрација и накупљање течности. С обзиром да је PCV2 веома отпоран, вирусне партикуле могу бити пронађене у макрофагима али оне нису у могућности да се даље умножавају.

Преваленција PCV2 инфекције је веома висока, али је морбидитет низак, те због тога не развијају све инфициране животиње симптоме PCVAD - болести повезане са цирковирусом (*Calsamiglia, 2002*). Серопреваленција цирковирусних инфекција у комерцијалним стадима у поједним земљама износи и до 100% (*Sibila, 2001*). Иако се код већине животиња у запату јавља вiremија, само 5-30% пријемчивих јединки

развија клиничке симптоме (*Calsamiglia, 2002*). Постоје 4 фактора важна за испољавање болести повезаних са PCV2, а то су: вирусни фактори, фактори везани за домаћина, као и фактори коинфекције и имуномодулације (*Opriessnig, 2007*).

### **Вирусни фактори**

Иако PCV2 проузрокује различите синдроме болести, не постоји јасна разлика у вирусном геному изолованом од оболелих. Секвенционирањем узорака PCV2 изолованих како од оболелих тако и од заражених свиња без клиничких симптома, утврђено је слагање у 95.6-100% случајева. Ови налази имплицирају да поред вируса постоје и други фактори који утичу на испољавање болести (*Grierson, 2004*). Такође, утврђено је да изолати PCV2 од свиња које нису оболеле могу изазвати обољење у експерименталним условима (*Allan, 2003*).

Током избијања болести у Канади 2004. године јавиле су се промене у испољавању PCVAD у виду плућног едема, грануломатозног ентеритиса, појачане лимфоцитне апоптозе и лимфоидне некрозе (*DeLay, 2005*). Накнадни извештаји су показали да је улазак генотипа PCV2b у САД повезан са појавом тешких епидемија у појединим државама током 2006. године (*Cheung, 2007*). На основу ових извештаја није потпуно разјашњено да ли је повећање преваленце PCV2b генотипа повезано са променом вируленце. Поједине студије указују да минималне промене у геному PCV2 изолата могу променити вируленцију овог вируса (*Fenaux, 2004b*).

### **Фактори везани за домаћина**

Иако се чини да су све расе свиња подједнако пријемчиве инфекцији са PCV2, недавна истраживања дају нове информације по овом питању. Поједине студије показују да постоје разлике у пријемчивости различитих раса свиња (*Lopez-Soria, 2006*). Управо ова разлика може објаснити варијације у исходу инфекције код различитих домаћина. Осетљивост домаћина и његов утицај на резултате инфекције испитивана је у односу на три расе свиња и то Јоркшир, Дурок и Ландрас. Инциденца системске PCVAD на основу клиничких знакова и микроскопских лезија била је највећа код Ландраса 15,8%, док је код Дурока и Јоркшира износила 0% (*Opriessnig, 2006b*). Иако ова истраживања нису довољно обимна како би се са сигурношћу могло тврдити да постоје значајне варијације у пријемчивости, свакако да су довољна да изазову сумњу и подстакну на размишљање и даља испитивања.

## **Фактори коинфекције**

Најзначајнија карактеристика инфекција са PCV2 свакако јесте лимфопенија, али у већини случајева је неопходна коинфекција са другим узрочницима како би се развили сви клинички симптоми повезани са синдромом PCVAD. Коинфекција са вирусним или бактеријским патогенима доводи до повећања инциденце и развоја озбиљнијих клиничких симптома. Најчешћи учесници коинфекције су: вирус респираторног репродуктивног синдрома свиња (PRRS), свињски парвовирус (PPV) и *Mycoplasma hyopneumoniae*. Ретроспективним испитивањима бројних случајева PCVAD у САД, изведен је закључак да је код више од 98% постојала коинфекција, и то у 52% случајева са вирусом PRRS, 36% *Mycoplasma hyopneumoniae*, 15% PPV, 14% бактеријска септикемија, 7,6% бактеријска пнеумонија, 5,4% инфлуенца свиња, док је сама PCV2 инфекција била присутна у 1.9% случајева (Pallares, 2002).

## **Фактори имуномодулације**

Утицај имуномодулације на испољавање PCV2 инфекције се може повезати са претходним фактором. Наиме, имуностимулација подстакнута присуством неког другог патогена пре инфекције са PCV2 доводи до развоја озбиљније клиничке слике са тежим последицама по домаћина. Такође, постоје докази који указују да уобичајени адјуванси који се користе у комерцијалним вакцинама могу довести до повећања инциденце PCVAD (Allan, 2001; Kyriakis, 2002). У студији у којој су свиње вакцинисане истима патогеном али уз присуство различитог адјуванса утврђени су различити ефекти. Код животиња вакцинисаних уљним вакцинама виремија је трајала дуже, присуство PCV2 у серуму и ткивима је било повећано, као и лимфодина деплеција, у односу на свиње вакцинисане воденим или вакцинама код којих је адјуванс базиран на алумунијум хидроксидним производима (Opriessnig, 2003).

## 2.5 КЛИНИЧКА СЛИКА И ПАТОМОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ

С обзиром да инфекција са PCV2 не доводи до појаве јединствене клиничке манифестације већ се јавља неколико синдрома болести, управо на тај начин се клиничка слика и патоморфолошке промене морају посматрати.

Можемо разликовати: синдром мултисистемског слабљења прасади након залучења (*Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome; PMWS*) и синдром дерматитис нефропатија свиња (*Porcine dermatitis nephropathy syndrome; PDNS*). Уз наведене болести, цирковирус свиња тип 2 се доводи у директну везу са репродуктивним, респираторним и пробавним поремећајима.

### 2.5.1. Клиничка слика и патоморфолошке промене PMWS-а

Синдром мултисистемског слабљења прасади по залучењу се може сматрати најзначајнијом манифестацијом комплекса болести повезаних са цирковирусном инфекцијом свиња. Иако је овај синдром примећен и код дивљих свиња, сматра се да је извор инфекције домаћа свиња (*Schulze, 2003*). Обољење се јавља у узрасту 7-16 недеља у САД и 5-12 недеља у Европи (*Segales, 2002.; Clark, 1997*). Разлика настаје због варијација у менаџменту и времену вакцинације од стране произвођача (*Opriessnig, 2003*). Морбидитет се креће у распону од 4 до 30%, док је морталитет на захваћеним фармама од 4 до 20% (*Segale's i Domingo, 2002*).

Основни клинички показатељ је прогресивни губитак телесне масе, поред овога присутна је летаргија, дијареја тамне боје, лимфаденопатија, оток капака, бледило и иктерус. Прасад имају грубу длаку, заузимају карактеристичан "укопан" или "замишљен" (Слика 4.) став са главом погнутом на доле (*Ivetić, 2004*). Прасад која показују овакве симптоме се не могу опоравити те се уклањају из запата. Код оболеле прасади примећује се повећање суперфицијалних ингвиналних, субмандибуларних, мезентеричних и медијастиналних лимфних чворова (*Rosell, 1999*).



Слика 4. : Изглед животиње са симптомима PMWS-а  
(Извор: <http://www.flockandherd.net.au/other/reader/suspect-pmws.html>)

Поред увећања површинских лимфних чворова, код угинуле прасади се могу запазити и промене на плућима која су неколабирана и чврсте конзистенције, тамне боје. Такође на бубрезима се могу запазити беле линије или тачкице. Од лимфних чворова најчешће су захваћени они у ингвиналној регији, на пресеку показују црвеносмеђу зону уз примесе сланинастих поља. Често су захваћени и мезентеријални лимфни чворови који могу достићи величину дечје подлактице. Код поједине прасади могу се приметити и промене на јетри у виду дисколорације, која је у највећем броју случајева праћена иктерусом. Забележени су и случајеви са грануломатозним променама на плућима, јетри, бубрезима, срцу и цревима (*Opriessnig, 2007*).

### **2.5.2. Клиничка слика и патоморфолошке промене PDNS-а**

Овај синдром је први пут описан 1993. године у Уједињеном Краљевству (*Smith, 1993*), а са PCV2 инфекцијом је повезан 2000. године (*Rosell, 2000*). Преваленција је испод 1% (*Segalés, 1998*), мада је повећана учесталост забележена у појединим случајевима (*Gresham, 2000*). Морталитет достиже 100% код свиња старијих од 3 месеца, док је код млађих категорија смртност и дупло нижа. Обољење се углавном завршава фатално у року од 3 дана од настанка промена, најчешће погађа товљенике, али се може појавити већ при узрасту од 5 недеља. Преживеле свиње се опораве и поврате телесну масу у року од 7 до 10 дана од почетка синдрома (*Segalés, 1998*).

Клиничка слика укључује анорексију са летаргијом и благо повишеном телесном температуром (*Drolet, 1999*). На ово се надовезује најупечатљивији симптом а то су

ирегуларно распоређене макуле и папуле у кожи, црвене до љубичасте боје, примарно на задњим екстремитетима и перинеалној регији, мада могу бити и генерализоване (Слика 5). С временом лезије постају прекривене црним крастама, бледе и остављају ожилъке (*Drolet, 1999; Segalés, 1998*).

Приликом обдукције уочавају се увећани бубрези, тамније боје и воштаног изгледа са петехијалним крварењима. Хистопатолошки, присутан је системски васкулитис са дермалном и епидермалном некрозом, и некротизирајући фибринозни гломерулонефритис сличан ономе који се јавља код хиперсензитивне реакције типа 3, где долази до накупљања антиген-антитело комплекса у зиду капилара крвних судова и гломерула (*Opriessnig, 2007*). Развој синдрома поспешује коинфекција са PRRS (*Choi, 2001*) , *Pasteurella multocida* (*Thibault, 1998*) , *Streptococcus suis 1 u 2* (*Lainson, 2002*), између осталих. Недавно је PDNS експериментално проузрокован са вирусом PRRS и TTV (Torque Tenovirus) код свиња слободних од PCV2 (*Krakowka, 2008*). Ово указује да PDNS није увек повезан са PCV2 инфекцијом.



Слика 5.: Леш животиње са променама карактеристичним за PDNS (Извор: <http://www.pcv2-mhyo-control.com/Pathogens/PCV2/PCVD/PDNS>)

### **2.5.3. Клиничка слика и патоморфолошке промене код ентеритиса чији је узрок PCV2**

Симптоми ентеритиса се јављају код прасади узраста 8-16 недеља и подсећају на хронични илеитис који је повезан са *Lawsonia intracellularis* инфекцијом. Код оболеле прасади се јавља дијареја, нервоза, поремећен прираст и повећан морталитет.

Хистопатолошки, уочава се грануломатозни ентеритис и карактеристичне PCV2 лезије на Пајеровој плочи али не и на другим лимфатичним ткивима. Приликом обдукције уочавају се увећани мезентерични лимфни чворови док је интестинална мукоза грубо задебљана.

### **2.5.4. Клиничка слика и патоморфолошке промене пнеумоније повезане са PCV2**

Овај синдром може бити део комплекса респираторних болести свиња (PRDC) (*Harms, 2002*). Јавља се код свиња узраста 8-26 недеља. Клинички симптоми укључују смањен прираст, анорексију, повишену телесну температуру, кашаљ и диспноју. Често подсећа на системску инфекцију истим узрочником и понекад долази до преклапања ова два синдрома.

Хистопатолошки, присутна је грануломатозна брохноинтерстицијална пнеумонија са некротичним и улцерозним бронхиолитисом и бронхијалном фиброзом. Диференцијално дијагностички у обзир треба узети класичну кугу свиња и коронавирусне инфекције (*Opriessnig, 2007*).

### **2.5.5. Клиничка слика и патоморфолошке промене код репродуктивних сметњи повезаних са PCV2**

Овај синдром је први пут регистрован у Канади 1990. године (*West, 1999*), и углавном погађа назимице (*Mikami, 2005*). Клинички знаци укључују повећан проценат абортуса, мртворођене прасади, мумифициране прасади и угинућа прасади пре залучења. Време инфекције детерминише и клинички ток болести. Инфекција у раном стадијуму доводи до ембрионалног угинућа уз регуларно или ирегуларно понављање еструса. Фетална инфекција пре 70 дана гестације доводи до угинућа



фетуса и мумификације. Циљни орган је срце на коме се јављају карактеристичне лезије (Слика 6).



Слика 6.: Фетус и срчани мишић фетуса пореклом од крмаче инфициране са PCV2  
(Извор: [https://www.pig333.com/articles/reproductive-failure-by-pcv2-infections\\_7361/](https://www.pig333.com/articles/reproductive-failure-by-pcv2-infections_7361/))

Фетуси инфицирани након 70 дана гестације су имунокомпетентни те исход зависи од нивоа репликације вируса и снаге имунитета. Фетуси могу уинути, преживети али бити слаби или преживети без негативних последица. Инфекција са PCV2 углавном не изазива абортусе али су погођена прасад при рођењу, и то на неколико начина: мумифицирана прасад, мртворођена или авитална. На основу ових карактеристика PCV2 је класификован као SMEDI (Stillbirth, Mummification, Embryonic Death, Infertility) вирус.

## 2.6. ИМУНИТЕТ

С обзиром да је већина приплодних крмача серопозитивна на РСV2, прасад се углавном рађају са антителима против овог вируса (*McKeown, 2005*). То значи да је полуживот антитела код залучене прасади 19 дана. Ниво антитела опада у узрасту 4-6 недеља код прасади која су опрашена са иницијално ниским нивоом истих, током 6-10 недеља код оних који су опрашени са средњим нивоом антитела, док се код прасади опрашених са високим нивоом антитела ово дешава у узрасту 8,5-13,5 недеља (*Opriessnig, 2004*). Клинички знаци болести се углавном јављају код прасади старије од 4 недеље, што указује на то да матернална антитела пружају одређену заштиту (*McKeown, 2005; McIntosh, 2006*). Експериментална истраживања указују да заштита коју пружају матернална антитела зависи од њиховог нивоа. Виок ниво мајчинских антитела пружа већу заштиту прасадима али не може спречити инфекцију у потпуности, док низак ниво антитела не пружа говотво никакву заштиту (*McKeown, 2005*). Ови подаци могу бити значајни за одабир оптималног времена за имунизацију животиња. С обзиром да већина новорођене прасади уноси колострална РСV2 анитела, вакцина ће бити најуспешнија уколико се апликује у узрасту 7-8 недеља, јер у том периоду опада ниво колостралних антитела. Вакцинација свиња са ниским нивоом пасивно стечених антитела или без њих даје позитиван ефекат, док за вакцинацију свиња са високим нивоом матерналних антитела постоји супротно мишљење.

### 2.6.1. Хуморални имуни одговор

Свиње које преживе РСV2 инфекцију развијају јак хуморални имуни одговор. Код експериментално инфицираних свиња сероконверзија се јавља 14 до 28 дана након инфекције (*Allan, 1999a; Balasch, 1999; Pogradichniy, 2000; Krakowka, 2001*). Поједине студије указују да се сероконверзија код клинички оболелих свиња јавља у каснијој фази инфекције у односу на животиње које не показују знаке болести (*Bolin, 2001; Rovira, 2002; Okuda, 2003*). Једна студија је показала да су прасад са израженом клиничком сликом имала много веће титрове IgM антитела 10-ог дана након инокулације и ниже титрове 21-ог дана у односу на субклинички инфицирану прасад (*Merrts, 2006*). Друга студија указује да се развој IgM антитела код супклинички инфицираних животиња одвија између 7-ог и 10-ог дана након инокулације, свој врхунац достиже 21-ог дана, а затим константно опада до 49-ог

дана. Насупрот овоме, IgG антитела се појављују нешто касније, између 14-ог и 21-ог дана пост-инокулације (ДПИ) и титар расте све до 69-ог дана. Због ове чињенице, присуство PCV2 IgM антитела је предложено као показатељ PCV2 виремије (Fort, 2007). У студијама које су пратиле висину титра неутрализирајућих антитела код субклинички инфицираних свиња, доказано је да се сероконверзија јавља од 15-ог дана након инфекције. Неутрализирајућа антитела (НА) су углавном IgG пре него IgM (Meerts, 2006; Fort, 2007). Повећањем титра НА смањује се количина PCV2 у крви, па се сматра да су НА одговорна за уклањање цирковируса из крви (Fort, 2009a). Неутрализирајућа антитела утврђена су код природно инфицираних белгијских свиња у узрасту од 10 недеља, док је код данских свиња то случај већ у узрасту од 3 недеље. Свиње код којих је развијен PCVAD имају низак ниво или уопште немају неутрализирајућа антитела (Meerts P, 2006).

Развој IgG1, IgG2 и IgA антитела прати ток укупног повећања титра антитела, док насупрот томе IgM антитела остају у ниским границама код свиња које развијају PMWS (Meerts, 2006). Мерењем укупног нивоа антитела против PCV2 не може се предвидети ток инфекције, јер различит број свиња остаје виремичан без видљивих клиничких знакова (Grau-Roma, 2009). Веза између висине титра антитела и заштите против PCV2 инфекције тренутно је непозната. Резултати којима се данас располаже указују да прасад са симптомима PMWS-а показују релативно слаб имунолошки одговор, што се посебно односи на стварање неутрализирајућих антитела (Kekarainene, 2010).

### 2.6.2. Целуларни имуни одговор

Многи аутори указују да је развој интерферон гама секреторних ћелија (IFN- $\gamma$ -SC) кључна компонента у развоју анти-PCV2 адаптивног ћелијског одговора (Fort, 2009a; Steiner, 2009). Истраживања су показала да се IFN- $\gamma$ -SC појављују просечно 14-ог дана након инфекције (Fort, 2009a). Свиње које не могу да произведу довољно интерферона гама, имају нижи ниво НА и већу учесталост виремија које су повезане са клиничком болести (Meerts, 2005). Запажено је да се смањење концентрације PCV2 у крви инфицираних свиња дешава истовремено са појавом неутрализирајућих антитела и PCV2 специфичних IFN- $\gamma$ -SC (Fort, 2009a).

## 2.7. ДИЈАГНОСТИКА

Дијагностика обољења повезаних са PCV2 (PCVAD) инфекцијом је доста сложена и данас се обавља на основу утврђених критеријума који служе за дијагностику како код индивидуалних животиња тако и у целом запату (*Sorden, 2000; Segales, 2002*).

Дијагностика PCVAD заснована је на присуству клиничких симптома и доказивања присуства PCV2 антигена у више од једног узорка лимфоидног ткива, или једног узорка лимфоидног ткива и једног органа (плућа, јетра, бубрези, црева) или у два органа. Уколико је присуство антигена утврђено само у једном органу односно органском систему, болест се категоризује на основу тог органа односно система. Уколико се утврди присуство мање количине PCV2 антигена али постоје озбиљне лезије сматра се да је у питању хронично обољење повезано са цирковирусном инфекцијом (*Opriessnig, 2007*).

### 2.7.1. Утврђивање присуства инфекције на основу клиничких и патоморфолошких промена

А ) Дијагностика PMWS-а

- 1) Клиничка слика (заостајање у порасту и бледило коже, уз могућност присуства респираторних или дигестивних знакова)
- 2) Хистопатолошке лезије (лимфопенија са грануломатозном инфламацијом)
- 3) Присуство умерених до високих количина PCV2 у оштећеном ткиву (*Segales, 2005b; Segales, 2012*).

За утврђивање присуства обољења у запатима који имају добре перформансе а код којих постоје животиње које испуњавају све наведене критеријуме, примењују се следећи принципи:

- 1) Повећан морталитет и заостајање у порасту прасади након залучења.
- 2) Обдукција најмање 5 свиња по једном запату. Овај број је довољан за утврђивање присуства обољења са тачношћу од 95% уколико је узрок пробелма присутан код 50% укупно оболелих животиња. Запат се сматра позитивним на PMWS када су патолошке и хистолошке промене

карактеристичне за ову болест присутне истовремено код најмање једне животиње (*Гагрчин, 2009; Segales, 2005b*)

Б ) Дијагностка PDNS-а

- 1) Постојање хеморагичних и некротичних лезија на кожи задњих екстремитета и перинеалној регији, оток и бледило бубрега са петехијалним крварењима генерализованог типа.
- 2) Утврђивање системског некротичног васкулитиса и некротичног фибринозног гломерулонефритиса.

Ц ) Дијагностика репродуктивног поремећаја

- 1) Побачаји у касном стадијуму гравидитета.
- 2) Фибринозни до некротични миокардитис код фетуса.
- 3) Умерена до висока количина PCV2 у срцу фетуса.

Д ) Дијагностика респираторног синдрома

- 1) Присуство респираторних клиничких знакова.
- 2) Грануломатозно интерстицијална пнеумонија или бронхо-интерстицијална пнеумонија, периобронхиоларна фиброплазија, улцерозни бронхиолитис или пролиферативна некротична пнеумонија уз одсуство лезија у лимфном ткиву.
- 3) Умерена до висока количина PCV2 у плућима.

Е ) Дијагностика ентеритиса

- 1) Дијареја.
- 2) Грануломатозни ентеритис и лимфоцитна деплеција са грануломатозном инфламацијом у Пајеровим плочама, али не и у другом лимфатичном ткиву.
- 3) Умерено до висока количина PCV2 у интестиналној мукози/Пајеровим плочама.

Ф ) Дијагностика субклиничких инфекција

- 1) Не постојање клиничких знакова.
- 2) Не постојање или минималне лезије у ткиву (лимфном).
- 3) Мала количина PCV2 у појединим ткивима.

### 2.7.2 Диференцијална дијагностика PCV2 инфекције

Због широког спектра клиничких манифестација које су присутне код оболелих животиња, диференцијално дијагностички се у обзир узимају болести код којих постоје исти или слични симптоми онима који доминирају на фарми. Може се рећи да је PRRS прво обољење које се налази на листи, пре свега због широке распрострањености и сличних клиничких симптома. Поједини аутори тврде да се све болести и стања код којих долази до заостајања у порасту морају узети у обзир (*Harding i Clark, 1997*). Поред PRRS-а ту су и болести које припадају комплексу респираторних обољења свиња (PRDC), затим Глесерова болест, класична куга свиња, колибацилоза, свињска спирохетоза, цревна аденоматоза, улцерације желуца и есперитрозооза.

Такође, неопходно је обратити пажњу и на обољења која доводе до дисколорације коже и она изазивају петехијална крварења на бубрезима (*Segales, 2002*), а ту се пре свега мисли на афричку/класичну кугу свиња, септикемични облик салмонелозе и црвени ветар.

Репродуктивне поремећаје узроковане PCV2 инфекцијом је тешко разликовати од других обољења која доводе до побачаја у касном гравидитету, као што су PRRS, парвовирусне инфекције, вирус свињске грипе, ентеровирусне инфекције, класична куга свиња и лептоспироза (*Segales, 2005a*).

### 2.7.3. Лабораторијска дијагностика PCV2 инфекције

Детекција PCV2 антигена или нуклеинске киселине сматра се златним стандардом дијагностике PCVAD. Најбољи тест за ову сврху је реакција ланчаног умножавања (PCR), затим *in situ* хибридизација (ISH) и имунохистохемија (ИHC) (*Opriessnig, 2007*). Подаци о специфичности и сензитивности ових тестова нису потпуни, али се сматра да је ИHC сензитивнији али мање специфичан од ISH. Такође, ИHC је јефтинији за извођење, међутим многе лабораторије немају у понуди овај тест јер је за његово извођење потребан анти-PCV2.

PCV2 нуклеинске киселине или антигени код PMWS и PDNS оболеле прасади могу се утврдити у цитоплазми хистоцита, мултиједарним ћелијама, алвеоларним макрофагима и Купферовим ћелијама (*Allan i Ellis, 2000b*). Детекција је могућа и у цитоплазми респираторног и реналног епитела, васкуларног ендотелијума, глатким

мишићним ћелијама као и ћелијама панкреаса, хепатоцитима и ентероцитима (*Kiupel, 1999; McNeilly, 1999*). Код фетуса се PCV2 може утврдити у кардиомиоцитима (*Sanhchez, 2001b*).

Утврђена је корелација између количине PCV2 нуклеинске киселине или антигена и изражености микроскопских лезије код PMWS инфициране прасади, што је и главна разлика између PMWS-а и PCV2 супклиничке инфекције (*Rosell, 1999*). Због ове чињенице методе као што су PCR, antigen capture ELISA и имунохистохемија, које омогућавају квантификацију вируса у серуму или ткивима, могу бити корисне за дијагностику PMWS инфекција (*McNeilly, 2002; Olvera, 2004*).

Такође, серолошке методе су погодне за утврђивање изложености узрочнику већег броја свиња.

#### 2.7.4. Детекција PCV2 антитела

Постоји неколико тестова односно метода који се користе у ову сврху. Један од њих је индиректни имунофлуоресцентни тест (*Indirect immunofluorescent assay; IFA*), који се користи за утврђивање присуства и одређивање висине титра антитела. Овај тест није аутоматизован и субјективан је.

IPMA (*immunoperoxidase monolayer assay*) се користи за утврђивање присуства антитела, али ова метода такође није аутоматизована (*Blanchard, 2003*). У лабораторијским истраживањима која су рађена у циљу поређења IFA и IPMA методе, другим тестом су детектовани виши титрови антитела (*McNair, 2004*).

ELISA је још једна од техника која се може користити за утврђивање и мерење антитела у серуму. У Европи су доступни китови за детекцију IgG и IgM ( *Ingezim PCV IgG i Ingezim PCV IgM ELISA*). Поређење вредности IgG и IgM може бити корисно за утврђивање времена инфекције. Уколико је  $IgM \geq IgG$  вредности, може се закључити да се ради о раној активној инфекцији (у првих 21 ДПИ). Када је  $IgM < IgG$  вредности реч је о активној инфекцији (између 20 и 50 ДПИ), док високе IgG и негативне IgM вредности указују на касну инфекцију или период реконвалесценције (око 2 месеца након инфекције) (*Segales, 2005c*). Доступна је и компетитивна ELISA (*SERELISA PCV2 Ab Mono Blocking*), специфична за детекцију PCV2 антитела која се може користити за утврђивање антитела у фецесу свиња (*Walker i sar., 2000*). Такође, развијена је и индиректна ELISA, метода која се користи за мерење титра

антитела и која се показала као веома добра у провери успешности вакцинације, а која користи или рекомбинанти PCV2-CAP протеин или PCV2 заражене ћелије као антиген (*Sibilla, 2004; Blanchard, 2003; Nawagitgul, 2002*).

Серум-вирус неутрализирајућа метода се такође користи у детекцији PCV2 антитела. Неутрализирајућа антитела се могу утврдити између 15 и 28 дана након инфекције. С обзиром да PCV2 не изазива видљив цитопатогени ефекат у инфицираним ћелијама, ова метода захтева употребу флуоресцентних антитела или имунопероксидаза бојење како би се утврдило присуство или одсуство вирусне репликације.

## **2.8. КОНТРОЛА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА**

Не постоји специфичан третман обољења повезаних са PCV2 инфекцијом. Третман појединачних случајева ће свакако помоћи побољшању здравственог стања, и он зависи пре свега од клиничких симптома заражене животиње. С обзиром да се у великом броју случајева ради о коинфекцији са другим патогенима (PPV, PRRS, ензоотска пнеумонија, свињски грип), избор адекватне терапије зависи и од њихове идентификације. Поједине студије које су рађене у Шпанији показују да вакцинација назимица против PRRS повећава ризик од настанка цирковиралних инфекција, док вакцинација крмача против атрофичног ринитиса умањује шансе за настанк овог обољења (*Lo'pez-Soria, 2005*). Вакцинација против PPV не смањује последице PCVAD код свиња код којих је присутна коинфекција (*Opriessnig T, 2004*), али комбинована вакцина PPV+erysipelas показује тедненцију заштите од PCV2-индукованог репродуктивног поремећаја (*Rose N, 2007*). За произвођаче, у PCVAD позитивним запатима, важно је утврђивање времена појаве инфекције како би се дефинисао тачан моменат вакцинације као део плана минимизације болести (*Гагрчин, 2009*).

Током првобитног избијања обољења, свиње третиране антибиотцима су претрпеле веће губитке од оних које нису лечене, али верује се да је до повећаног морталитета дошло због употребе исте игле при апликацији антибиотика код великог броја животиња пре него због саме употребе лекова.

Синдроми болести повезаних са PCV2 инфекцијом предстваљају значајан економски параметар када се појаве у једном запату. Како би се идентификовало и контролисало избијање болести у запату потребно је утврдити да ли обољење



представља озбиљан проблем или се јавља само спорадично. Утврђена је дефиниција која помаже у детерминацији обољења. Озбиљним проблемом се сматра повећање морталитета које је једнако или веће од средње вредности угинућа у прошлости + 1,66 x стандардна девијација. Уколико не постоје подаци о угинућима у прошлости, проблем запата се може дефинисати као повећање морталитета које премашује национални или регионални ниво за 50%. Другим речима, ако је код 50% или више свиња из репрезентативног узорка дијагностикован PCVAD и постоји значајан пораст морталитета у односу на претходне податке о угинућима, сматра се да постоје озбиљни проблеми у запату. Међутим, уколико је код мање од 50% свиња дијагностикован PCVAD али и даље постоји повећање моралитета, или ако је код више од 50% свиња дијагностикован PCVAD али нема повећања морталитета, избијање обољења се може сматрати спорадичним а не проблемом целокупног запата (*Segales J., 2006*).

Пре употребе комерцијалних вакцина у контроли цирковирусних инфекција акценат је на обезбеђивању добре производне праксе. Данас се користи Мадеков план од 20 тачака за контролу цирковирусне инфекције, који се може сумирати у 4 златна правила која укључују: 1) ограничавање контакта свиња, 2) смањење стреса, 3) добра хигијена, 4) добра исхрана (*Madec, 1999*). Да би се морталитет са 20% смањено на једноцифрен број потребно је применити барем 16 тачака овог плана, и то:

Прашење:

1. Све напоље/прање/дезинфекција/све унутра
2. Прање крмача и дехелминтизација пре прашења
3. Стављање прасади под другу крмачу ограничити, само када је нужно у првих 24 сата

После залучења:

1. Мали боксеви, чврсте и пуне преграде
2. Све напоље/чишћење/дезинфекција/све унутра
3. Смањити густину (3 свиње на м<sup>2</sup>)
4. Повећати ширину места на хранилици (+7цм/прасету)
5. Побољшати квалитет ваздуха (NH<sub>3</sub><10ppm, CO<sub>2</sub><0,15%)
6. Побољшати контролу температуре
7. Не мешати групе

Тов:

1. Мали боксеви, чврсте и пуне преграде
2. Све напоље/чишћење/дезинфекција/све унутра
3. Не мешати групе из других боксева формираних након залучења
4. Не мешати товне свиње
5. Смањити густину (+0,75м<sup>2</sup>/свињи)
6. Побољшати квалитет ваздуха и температуру

Друго:

1. Одговарајући програм вакцинације
2. Логична линија кретања унутар објекта (ваздуха, животиња...)
3. Строга хигијена
4. Рано уклањање оболелих свиња

Прегледом наведених тачака може се закључити да је један од главних циљева овог плана смањење додира међу животињама, јер је управо директан контакт најчешћи пут ширења инфекције у запату.

Дезинфекција је важан и незаобилазан процес у свињарској производњи, не само као поступак којим се превенира цирковирусна већ и друге инфекције. Смањење титра вируса *in vitro* утврђено је применом натријум хидроксида, Virkon S, Roccal D Plus, Слогох, избелјивач (3-6% натријум хипохлорит), Fulsan i Тек-Trol у контролисаним условима (Royer, 2001). На Ајова универзитету у САД утврђен је следећи протокол: наношење детерџента у концентрацији 1:64, након 10 минута испирање топлом водом под притиском; затим деконтаминација применом Virkon S у концентрацији 1:30 и трајању од 10 минута после чега се испира топлом водом; пре уласка нових свиња следи распршивање водом са Clidox-S и оставља се да се осуши, испирање водом након 6 до 12 сати (Royer, 2001).

Иако су одређени помаци у контроли РМWS-а постигнути на појединим фармама променама у исхрани оболелих свиња (Donadeu, 2003), као што су повећање густине хране, додавање антиоксиданаса, употреба коњуговане линолеинске киселине која ублажава експерименталне инфекције (Bassaganya-Riera, 2003), додаток витамина Е и селена (Baebko, 2004), још увек не постоји довољно научних информација које би

поткрепиле тврдње да се на овај начин могу смањити негативни ефекти код ове болести.

## 2.9. ИМУНОПРОФИЛАКСА ЦИРКОВИРУСНИХ ИНФЕКЦИЈА

Првобитни покушаји у развоју вакцине укључивали су употребу инактивисане PPV вакцине. С обзиром да често постоји коинфекција PPV и PCV2, постојало је мишљење да би вакцинација у раном добу могла превенирати развој PCVAD. Овај приступ је деловао обећавајуће али корист овакве вакцинације није потврђена када је вакцина тестирана у контролисаним условима (*Opriessnig, 2004; Halbur PG, 2000*).

Једна од првих PCV2 вакцина на тржишту била је Merial CIRCOVAC® (Duluth, GA), инактивисана PCV2 вакцина са уљним адјувансом, намењена за употребу на приплодним животињама (*Opriessnig T, 2007*). Ова вакцина је кориштена широм Европе, а била је доступна и у Канади. Вакцина је била успешна у смањењу циркулације PCV2 вируса као и његовог излучивања код прасиди старе недељу дана а која су потицала од вакцинисаних крмача (*Charreyre, 2005*).

Следећа вакцина која је доступна на тржишту како у САД тако и у Европи и Азији је Boehringer Ingelheim Ingelvac CircoFLEX® (Petersurg, VA), појединачна вакцина која је базирана на капсидном протеину. Вакцина се апликује једнократно, интрамускуларно, код прасиди старије од 3 недеље (*Opriessnig, 2007*). У истраживању које је спроведено у Великој Британији у коме су вакцинисана прасид старе 3 недеље, морталитет проузрокован са PCVAD је редукован са 14,3% на 4,6% (*Von Richthofen, 2007*).

Трећа вакцина је развијена од стране Intervet Inc/Schering-Plough Animal Health (Kenilworth, NJ), такође појединачна вакцина базирана на капсидном протеину. Ова вакцина је у САД и Канади регистрована под називом Circumvet® PCV, а у Европи и Азији као Porcilis® PCV. Circumvet® PCV се даје интрамускуларно у 2 дозе, у размаку од 3 недеље, при узрасту од 3 и 6 недеља (*Opriessnig, 2007*). Porcilis® PCV се апликује у једној дози. У студији која је обухватала 35.000 свиња на 21 фарми утврђено је да је морталитет вакцинисане прасиди смањен за 77,5% у поређењу са невакцинисанима јединкама (*Grau AF, 2007*).

Suvaxyn® PCV (Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L.), вакцина која садржи инактивисани рекомбинантни PCV1, који експримира ORF2 протеин PCV2. Вакцина се примењује код прасади узраста 3 недеље, интрамускуларно у једној дози, имунитет настаје 3 недеље након вакцинације и траје 19 недеља.

Антитела која настају било активно (вакцинација прасади) било пасивно (вакцинација крмача), су одговорна за заштиту прасади у случају инфекције са PCV2. Међутим, ниске концентрације или одсуство антитела након вакцинације, не значе да животиња није заштићена. Поједини аутори (*Fenaux, 2004a*), су утврдили да након вакцинације са химеричним PCV1-2 вирусом не долази до сероконверзије код свих свиња, али се код њих након излагања PCV2 вирусу нису јавили клинички симптоми болести, нити је дошло до виремије.

Сваки произвођач комерцијалне вакцине наводи дужину трајања имунитета након вакцинације. Чињеница је да титар антитела код вакцинисане прасади расте две недеље након вакцинације, свој пик досеже између 6. и 9. недеље након вакцинације, а након тога ниво укупних антитела се незнатно смањује (*Martelli, 2011*).

Најуспешније вакцине су оне базирани на индукцији активног имунолошког одговора на капсидни протеин (Cap) PCV2. Овај протеин је означен као главни имуноген индукујући стварање заштитних антитела (*Kixmoller, 2008; Opriessnig, 2008c*).

Комерцијалне вакцине које су данас доступне на тржишту су засноване на PCV2a генотипу и све показују добру ефикасност, иако је тренутно широм света доминантан PCV2b генотип, а недавна истраживања показују да ову доминацију преузима PCV2d генотип (*Xiao C.-T., 2016*).

### **2.9.1. Имунопрофилактика крмача и назимица**

Вакцинација крмача и назимица се може узети у обзир као једна од метода превенције и смањења ефекта PCVAD. Посматрајући ефекте вакцинације на излучивање и серологију PCV2, резултати истраживања показују да се вакцинацијом плоткиња постиже смањено излучивање вируса путем фецеса те да долази до повећања нивоа титра антитела код крмача и назимица као и код прасади старе 3 недеље. Повећање хуморалног одговора код крмача резултује повећањем концентрације колостралних PCV2 антитела (*Sibila, 2013*), као и бољом трансмисијом антитела на прасад која сисају. Ови подаци указују да вакцинација

крмача и назимица PCV2 вакцинама пружа заштиту прасади у тренутку инфекције, обезбеђујући на тај начин могућност развоја сопственог адаптивног имуног одговора који може довести до смањења виремије и последично смањеног излучивања вируса (Fort M, 2007; Meerts, 2005; Meerts, 2006).

### 2.9.2. Имунопрофилактика прасади

Многа истраживања недвосмислено указују на то да је вакцинација прасади од изузетног значаја за смањење негативних последица инфекције са PCV2. Готово све данас доступне комерцијалне вакцине препоручене су за имунизацију прасади од 3 недеље старости. С обзиром на то да је један од главних коузрочника респираторних болести поред PCV2 и *Mycoplasma hyopneumoniae*, развијена је комбинована вакцина (Porcilis® PCV М Нуо) која апликацијом једне дозе (не захтева мешање) штити свиње од обе инфекције током критичног периода раста и до краја тога. (Došen, 2018).

У студији у којој је кориштена Ingelvac Circoflex® вакцина, није било разлике у ефикасности без обзира на то да ли су прасад вакцинисана при узрасу од 3 или 6 недеља, што указује да матернална антитела немају значајног утицаја (Cline, 2008)

### **3. ЦИЉЕВИ И ЗАДАЦИ**

Основни циљ овог рада јесте да се утврди укупна серопреваленција цирковирусних инфекција и серопревалнција за специфичне старосне групе свиња на подручју Војводине.

Да би се дошло до жељеног циља постављени су следећи задаци:

1. Утврдити укупну серопреваленцију PCV-2 код свиња.
2. Утврдити серопреваленцију PCV-2 код прасади на сиси.
3. Утврдити серопреваленцију PCV-2 код прасади у одгоју.
4. Утврдити серопреваленцију PCV-2 код свиња у тову

## 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

### 4.1. ОГЛЕДНЕ ЖИВОТИЊЕ

Испитивање је вршено на 6 фарми свиња са различитих локација на територији АП Војводине (по две фарме са територије Бачке, Баната и Срема), капацитета од 500 до 2500 крмача, са интензивним начином држања затвореног типа. Укупно је узето 540 узорака из све три регије (табела 2).

Табела 2.: Број узорака по регионима

Регион	Број узорака
Бачка	240
Банат	160
Срем	140
<b>Укупно:</b>	<b>540</b>

Узорци крви од испитиваних животиња узете су од три различите категорије свиња (табела 3). Ниједна од тестираних животиња није била вакцинисана против РСV2.

Табела 3. Број узорака по категоријама

Категорија свиња	Број узорака	Узраст (недеље живота)
Прасад на сиси	220	3-4 недеље
Прасад у одгоју	170	8-9 недеља
Товљеници	150	20-22 недеља
<b>Укупно:</b>	<b>540</b>	

Услови смештаја и исхране на свим испитиваним фармама били су у складу са фармско-индустријским начином држања свиња. Прасад се залучују са 28 дана, а од петог дана живота у исхрану им се укључује концентрована храна (предстартер).

Након 28 дана лактације, крмаче се преводе у букариште, а прасад се залучују у одгајивалиште са кавезним системом држања. У одгајивалишту се прасад задржава до узраста од 75 дана, када се пребацују у товилиште и ту остају до узраста од 6 месеци. Приплодни подмладак се одваја и пребацује у репро центар, а остале животиње се задржавају у товилишту до завршетка това.

Све крмаче и назимице се пре припуста вакцинишу против класичне куге свиња. Назимице и крмаче немају контакт пре доласка у прасилиште. Плоткиње се у прасилишту држе у укљештењу, хране се два пута дневно, а узимање воде је по вољи. У сваком боксу се налази грејно тело, које новорођеним прасадима обезбеђује оптималну температуру од 33-35°C.

Прасад трећи дан живота добијају интрамускуларно антианемик и тада се мушка прасад кастрира. Прасад се 7. и 21 . дана живота вакцинишу против микоплазматских инфекција. Исхрана прасади у одгајивалишту је по вољи, настављају да једу предстартер до 40. дана живота, а онда прелазе на стартер. Прасад се у узрасту од 42 до 45 дана вакцинишу против класичне куге свиња, а са 90 дана се ревакцинишу у товилишту.

#### 4.2. УЗОРКОВАЊЕ КРВИ

Узимање узорка крви од 540 свиња урађено је у циљу добијања узорка крвних серума за одређивање специфичних PCV2 антитела.

Узорковање крви код прасади на сиси вршено је на између 3 и 4 недеље живота, код прасади у одгоју између 8 и 9 недеља, а код товљеника између 20 и 22 недеље живота. Крв је узета пункцијом брахиоцефаличног плексуса животиња (слика 7).



Слика 7. Вађење крви код прасади



Узорци крви сакупљани су у количини око 9мл у вакутајнере са активатором коагулације и у ручном фрижидеру допремани до лабораторије. Крвни серум је издвајан након коагулације и центрифугирања. Узорци серума чувани су на -20°до испитивања. Лабораторијска испитивања су извршена на Пољопривредном Факултету у Новом Саду и Научном институту за ветеринарство Србије у Београду.

#### **4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИТЕЛА СПЕЦИФИЧНИХ ЗА PCV2 ИНДИРЕКТНОМ ELISA МЕТОДОМ - INGEZIM CIRCO IgG (Ингенаса, Шпанија)**

- **INGEZIM CIRCO IgG** је индиректна ELISA (слика 8) за детекцију PCV2 и/или одређивање титра антитела специфичних за PCV2 у крвном серуму свиња.

Принцип теста:

Антиген (PCV рекомбинантни протеин) је фиксиран на чврстој полистиренској микроплочи. Када узорак серума садржи специфична антитела против серума они ће се везати за антиген фиксиран на плочи, а ако узорак серума не садржи специфична антитела, неће доћи до везивања. Када додамо специфична моноклонска антитела против свињских имуноглобулина (коњугат са пероксидазом) она ће везати специфична антитела из серума, а уколико антитела нису присутна у серуму коњугат ће бити елиминисан у следећем кораку испирања. Након испирања плоче, да би се елиминисао не фиксирани материјал, можемо открити присуство или одсуство коњугата додајући специфични супстрат који ће у присуству пероксидазе развити колориметријску реакцију.



Слика 8. INGEZIM CIRCO IgG kit (Ingenasa, Шпанија)

Опис поступка:

Прво смо направили раствор за испирање тако, да смо на један део концентрованог раствора додали 24 дела дестиловане воде (40мл концентрованог раствора са 960мл дестиловане воде како би добили 1л раствора за испирање). Раствор за узорке смо припремили тако да смо на један део концентрованог разређивача додали четири дела дестиловане воде. На микроплочу за коју је везан антиген додали смо у два бунара по 100μл позитивног контролног серума и у два бунара такође по 100μл негативног контролног серума. У остале бунаре нанели смо по 100μл разређеног серума у разређењу 1:200 (5μл серума са 1мл разређивача за серуме).

Микроплочу смо 1 сат инкубирали на 37°C. За све узорке израчунали смо » cut off « вредности:

Негативна » cut off « = оптичка густина (ОД) негативне контроле + 0.2

Позитивна » cut off « = ОД негативне контроле + 0.25

Тест је валидан када је:

ОД негативне контроле мањи од 0.35

ОД позитивне контроле већи од 0.7

Узорци са ОД вредностима већим од позитивне контроле сматрају се позитивним на РСV2 антитела, док се ОД вредности ниже од негативне контроле сматрају негативним на РСV2 антитела. ОД вредности између негативног и позитивног cut off –а сматрају се сумњивим.

## 5. РЕЗУЛТАТИ

Из резултата наведених у табели 4. може се констатовати да је од укупног броја узорака из све три категорије свиња на територији Бачке добијен позитиван резултат у 77.5% испитиваних узорака. Највиши проценат од 86.3% позитивних животиња био је у категорији товљеника, а најмањи 70.9% код прасади у одгоју.

Табела 4. Серопреваленца PCV2 код различитих категорија свиња на територији Бачке

Категорија свиња	Резултат		Укупно
	Негативни (0)	Позитивни (1)	
Прасад на сиси	21 (23.8%)	67 (76.2%)	88 (100%)
Прасад у одгоју	23 (29.1%)	56 (70.9%)	79 (100%)
Товљеници	10 (13.7%)	63 (86.3%)	73 (100%)
Укупно	54 (22.5%)	186 (77.5%)	240 (100%)

На основу резултата наведених табели 5. која садржи резултате узорака прикупљених на територији Баната, може се запазити да је укупан проценат позитивних животиња из узорка све три категорије 78.1%. При томе, највиши проценат позитивних грла је у категорији товљеника 90.7%, а најмањи код прасади у одгоју 64%.

Табела 5. Серопреваленца PCV2 код различитих категорија свиња на територији Баната

Категорија свиња	Резултат		Укупно
	Негативни (0)	Позитивни (1)	
Прасад на сиси	13 (19.4%)	54 (80.6%)	67 (100%)
Прасад у одгоју	18 (36%)	32 (64%)	50 (100%)
Товљеници	4 (9.3%)	39 (90.7%)	43 (100%)
Укупно	35 (21.9%)	125 (78.1%)	160 (100%)

Резултати из табеле број 6. указују да је процентан позитивних у испитиваном узорку са територије Срема изнад половине (66.4%), док је највиши број позитивних грла из категорије товљеника (79.4%).

Табела 6. Серопреваленца PCV2 код различитих категорија свиња на територији Срема

Категорија свиња	Резултат		Укупно
	Негативни (0)	Позитивни (1)	
<b>Прасад на сиси</b>	22 (33.8%)	43 (66.2%)	65 (100%)
<b>Прасад у одгоју</b>	18 (43.9%)	23 (56.1%)	41 (100%)
<b>Товљеници</b>	7(20.6%)	27 (79.4%)	34 (100%)
<b>Укупно</b>	43 (33.6%)	93 (66.4%)	140 (100%)

Поређењем резултата који се налазе у претходним табелама (4,5,6), можемо доћи до закључка да је највиши проценат укупно позитивних животиња пореклом са територије Баната (78.1%), док је најмања вредност истог параметра у узорку прикупљеном на територији Срема (66.4%).

Ако упоредимо резултате добијене по категоријама, закључујемо да је највиши проценат позитивних прасади на сиси у испитиваним узорцима са територије Баната (80.6%), у категорији прасади у одгоју највиши проценат позитивних је у испитиваним узорцима са територије Бачке (70.9%), док је овај резултат у категорији товљеника највиши у испитиваним узорцима пореклом са територије Баната (90.7%).

Посматрајући резултате из табеле 7. Установили смо да је укупан број позитивних животиња у испитиваним узорцима на територији АП Војводине 74.8%, од чега је највиши проценат позитивних у категорији товљеника (86%) а најнижи у категорији прасади у одгоју (65.3%), док је код прасади на сиси износио 74.5%.

Табела 7. Серопреваленца PCV2 код различитих категорија свиња на територији АП Војводине

Категорије свиња	Резултат		Укупно
	Негативни (0)	Позитивни (1)	
<b>Прасад на сиси</b>	56 (25,5%)	164 (74.5%)	220 (100%)
<b>Прасад у одгоју</b>	59 (34.7%)	111 (65.3%)	170 (100%)
<b>Товљеници</b>	21(14%)	129 (86%)	150 (100%)
<b>Укупно</b>	136(25.2%)	404 (74.8%)	540 (100%)

## 6. ДИСКУСИЈА

Свињски цирковирус тип 2, са екомског аспекта, један је од најзначајнијих узрочника болести свиња. Веће интересовање за цирковирусне инфекције почело је након појаве мултисистемског синдрома слабљења прасади након залучења (PMWS). Након откривања цирковирусних инфекција, серопреваленције су утврђене у Немачкој (*Tischer, 1986*), Канади (*Dulac, 1989*), Енглеској (*Edwards, 1994*) и САД (*Hines, 1995*). Ове почетне студије показале су да је цирковирус широко распрострањен у популацији свиња у испитиваним земљама.

У овом испитивању од укупног број испитиваних свиња специфична PCV-2 антитела су пронађена код 74.8% животиња, што је веома сличан резултат ономе који су добили истраживачи у другим Европским земљама, као што су Шпанија са серопреваленцијом од 72.7% (*Rodriguez-Arriola, 2003*) и Француска са 80.2% (*Blanchard, 2003*). Добијени резултат је нижи у односу на Белгију са 100% (*Lefebvre, 2008*), али и виши у односу на Аустрију са 60% (*Schmoll, 2008*) и Словачку са 54% позитивних узорака (*Csank, 2011*).

Ако погледамо земље ван Европског континента серопревалнеца утврђена у овом истраживању је нешто нижа у односу на Канаду са 82.4% (*Liu, 2002*) и САД са 80% (*Nawagitgul, 2002*).

На даље, резултати овог истраживања указују да је највиши проценат позитивних грла у категорији товљеника са 86%, следи категорија прасади на сиси са 74,5% док је најнижи проценат позитивних грла у категорији прасади у одгоју са 65,3%. Висок проценат позитивних прасади на специфична PCV2 антитела може се објаснити високим нивоом матерналних антитела код прасади на сиси, које они уносе колострумом. Овоме у прилог говори и то да се цирковирусне инфекције не јављају код прасади млађих од 4 недеље (*Segales, 2004*).

Процењени полуживот PCV-2 антитела је 19 дана, а ниво пасивно стечених имуноглобулина опада испод ELISA "cut off" нивоа у узрасту од 5 недеља

(*Opriessnig, 2004*). У истраживању које је спроведено на РМWS позитивним (+) и негативним (-) фармама у Француској (*Blanchard, 2003*), утврђена је серопреваленца од 100% у категорији товљеника узраста 18-19 недеља. Слично истраживање је спроведено у Шпанији (*Sibilia, 2004*), при чему је утврђено да је највиши проценат грла позитивних на присуство специфичних РСV2 антитела у узрасту од 1-5 недеља (прасад на сиси/по залучењу), и 16-20 недеља (товљеници).

Наши резултати су у сагласности са резултатима који су добијени у Шпанији и Данској (*Grau-Roma, 2009*). У испитиваном узорку пореклом са фарми свиња у Шпанији, утврђен је висок проценат грла позитивних на РСV2 антитела при узрасту од 1-3 недеље, након чега се тај проценат знатно снижава до узраста од 7 недеља. Од 7 до 11 недеља живота број позитивних грла стагнира или незнатно расте, да би од 11-те недеље живота до краја тога значајно порастао. Могући разлози за овај нагли пораст позитивних јединки на РСV2 у крвним серумима товљеника јесу присуство широко распрострањене инфекције на нашим просторима, као и постојања неимуне популације свиња на инфекцију узрочником РСV2.

Слични резултати у истом истраживању добијени су и на узорцима пореклом са фарми свиња из Данске, с тим што је овде приметан раст броја позитивних грла већ од девете недеље живота, али процентуално не прелази вредности забележене у категорији прасади на сиси.

## 7. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата добијених у овом раду може се закључити да:

1. укупна серопреваленција PCV-2 на подручју Војводине износи 74.8%.
2. је серопреваленција PCV-2 на подручју Војводине код прасади на сиси 74.5%.
3. је серопреваленција PCV-2 код прасади у одгоју на подручју Војводине 65.3%.
4. серопреваленција PCV-2 код категорије товљеника на подручју Војводине износи 86%.

## 8. ЛІТЕРАТУРА

1. Allan G, Mcneilly F, McNair I (2001). Neonatal vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae* and postweaning multisystemic wasting syndrome: A field trial. *Pig J*;48:34–41.
2. Allan G, McNeilly F, Meehan B, et al. (2003). Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs experimentally inoculated with a Swedish porcine circovirus 2 isolate. *J Vet Diagn Invest*;15:553–560.
3. Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, et al (1999). Experimental reproduction of severe wasting disease by coinfection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *J Comp Pathol*;121:1–11.
4. Allan GM, McNeilly F, McNair I, Curran MD, Walker I, Ellis J, Konoby C, Kennedy S and Meehan B (2000a). Absence of evidence for porcine circovirus type 2 in cattle and humans, and lack of seroconversion or lesions in experimentally infected sheep. *Archives of Virology* 145: 853–857.
5. Armstrong D, Bishop SC (2004). Does genetics or litter effect influence mortality in PMWS. In: *Proc. 18th Int. Pig Vet. Soc.*
6. Baebko P, Hassing AG, Olsen P, Lorenzen B, Wachmann H and Lauridsen C (2004). Vitamin E and postweaning mortality in PMWS affected herds. In: *Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress*, p. 62.
7. Balasch M, Segales J, Rosell C, et al. (1999). Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome. *J Comp Pathol*;121:139–148.
8. Bassaganya-Riera J, Pogranichniy RM, Jobgen SC, Halbur PG, Yoon KJ, O’Shea M, Mohede I, Hontecillas R (2003). Conjugated linoleic acid ameliorates viral infectivity in a pig model of virally induced immunosuppression. *Journal of Nutrition* 133, 3204–3214.



9. Blanchard P, Mahe´ D, Cariolet R, et al., (2003) An ORF2 protein-based ELISA for porcine circovirus type 2 antibodies in post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Microbiol* 94:183–194.
10. Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GPS, Hamel AL (2001). Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13 (3), 185–194.
11. Calsamiglia M, Sibila M, Segales J, et al. (2002). Detection of porcine circovirus type 2 in different routes of excretion: Possible transmission routes and correlation with presence of postweaning multisystemic syndrome characteristic lesions. *Proceedings of the 17th International Pig Veterinary Society Congress, Ames, IA, 1, p. 28.*
12. Charreyre C, Beseme S, Brun A, et al. (2005). Vaccination strategies for the control of circoviral diseases in pigs. *Proc Intern Conf Anim. Circoviruses Assoc. Dis.;*26–30.
13. Cheung AK, Lager KM, Kohutyuk OI, et al. (2007). Detection of two porcine circovirus type 2 genotypic groups in United States swine herds. *Arch Virol;*152:1035–1044.
14. Choi C, Chae C. (2001). Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephrology syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol;*38:436–441.
15. Clark E. (1997). Postweaning multisystemic wasting syndrome. *Proceedings of American Association of Swine Practitioners Quebec City, Canada;* 499–501.
16. Cline G, WiltV, Diaz E and R. Edler (2008). Efficacy of immunising pigs against porcine circovirus type 2 at three or six weeks of age. *Vet. Rec.,* 163; pp. 737–740.
17. Csank T., Pistl J., Pollakova J., Holoda E., Harvan M. (2011). Prevalence of porcine circovirus 2 infection in pig population in SlovakiaT. *Acta virologica* 55: 267 – 271.
18. DeLay J, McEwen B, Carman S, et al. (2005). Porcine circovirus type 2-associated disease is increasing. *AHL Newsletter,* 9, p. 22.
19. Delwart E., Li L. (2012). Rapidly expanding genetic diversity and host range of the Circoviridae viral family and other Rep encoding small circular ssDNA genomes. *Virus Res.* 2012 Mar;164(1-2):114-21.

20. Donadeu M, Waddilove J, Marco E (2003). European management strategies to control postweaning multisystemic wasting syndrome. In: Proceedings of the Allen D. Leman Swine Conference, Minneapolis, USA, pp. 136–142.
21. Дошен Р, Лукућ М, Ђурђрвић И, (2018). Вакцинација прасади вакцинама против PCV и *Mycoplasma hyopneumoniae* и њихов утицај на болести респираторног тракта товљеника. Шестаесто саветовање - Здравствена заштита, селекција и репродукција свиња. Сребрно језеро, 31. мај - 2. јун., 62-65.
22. Drolet R, Thibault S, D'Allaire S, Thomson JR and Done SH (1999). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. *Journal of Swine Health and Production* 7: 283–285.
23. Dulac G.C., Afshar A. (1989). Porcine circovirus antigens in PK-15 cell line (ATCC CCL- 33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs. *Can. J. Vet. Res.* 53 (4), 431–433.
24. Dupont K, Nielsen EO, Baekbo P, Larsen LE (2008). Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Vet. Microbiol.* 128, 56-64.
25. Edwards S., Sands J.J., (1994). Evidenc of circovirus infection in British pigs. *Vet. Rec.* 134 (26), 680–681.
26. Ellis J, Spinato M, Yong C, West K, McNeilly F, Meehan B, Kennedy S, Clark E, Krakowka S and Allan G (2003). Porcine circovirus 2-associated disease in Eurasian wild boar. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15: 364–368.
27. Ellis JA, Konoby C, West KH, Allan GM, Krakowka S, McNeilly F, Meehan B and Walker I (2001). Lack of antibodies to porcine circovirus type 2 virus in beef and dairy cattle and horses in western Canada. *Canadian Veterinary Journal* 42: 461–464.
28. F. D. Niagro, A. N. Forsthoefel, R. P. Lawther, L. Kamalanathan, B. W. Ritchie, K. S. Latimer, P. D. Lukert (1998). Beak and feather disease virus and porcine circovirus genomes: intermediates between the geminiviruses and plant circoviruses. *Arch Virol* 143: 1723-1744.
29. Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, et al., (2004a). A chimeric porcine circovirus (PCV) with the immunogenic capsid gene of the pathogenic PCV type 2 (PCV2) cloned into the genomic backbone of the nonpathogenic PCV1 induces protective immunity against PCV2 infection in pigs. *J Virol* 78:6297–6303.

30. Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, et al., (2004b). Two amino acid mutations in the capsid protein of type 2 porcine circovirus (PCV2) enhanced PCV2 replication in vitro and attenuated the virus in vivo. *J Virol* 78:13440–13446.
31. Fort M, Fernandes LT, Nofrarias M, Diaz I, Sibila M, Pujols J, Mateu E, Segales J, (2009a). Development of cell-mediated immunity to porcine circovirus type 2 (PCV2) in caesarean-derived, colostrum-deprived piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 129 (1–2), 101–108.
32. Fort M, Olvera A, Sibila M, Segalés J, Mateu E. (2007). Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs. *Vet Microbiol.* 125:244–255
33. Гагрчин М, (2009). Актуелна сазнања о пеизоотиологији, контроли и превентиви цирковирусних инфекција свиња. Седми симпозијум - Здравствена заштита, селекција и репродукција свиња. Сребрбо језеоро, 21-23 мај, pp 6-10.
34. Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V (2009). Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *J. Vet. Intern. Med.* 23 (6), 1151–1163.
35. Grau AF, Jorgensen J, Thacker B, et al. (2007). Field performance of a conditionally licensed vaccine: The US experience. *Proc Am Assoc Swine Vet.: PCV2/PMWS Sem.;*38:159–161.
36. Grau-Roma L, Hjulsgaard CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enøe C, Casal J, Bøtner A, Nofrarias M, Bille-Hansen V, Fraile L, Baekbo P, Segalés J, Larsen LE (2009). Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet. Microbiol.* 135, 272–282.
37. Gresham A, Giles N and Weaver J (2000). PMWS and porcine dermatitis nephropathy syndrome in Great Britain. *Veterinary Record* 147: 115.
38. Grierson SS, King DP, Wellenberg GJ, et al. (2004). Genome sequence analysis of 10 Dutch porcine circovirus type 2 (PCV-2) isolates from a PMWS case-control study. *Res Vet Sci;*77:265–268.
39. Ha Y, Lee YH, Ahn KK, Kim B, Chae C (2008). Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection

- and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Vet. Pathol.* 45 (6), 842–848.
40. Halbur PG. (2000). Update on PRRSV in grow-finish. *Proc. Swine Dis. Conf. Swine Pract.*;8:113–123.
  41. Harding JCS and Clark EG (1997). Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) *Journal of Swine Health and Production* 5: 201–203.
  42. Harms PA, Halbur PG, Sorden SD. (2002). Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *J Swine Health Prod*;10:27–30.
  43. Hines R.K., Lukert D. (1995). Porcine circovirus: a serological survey of swine in the United States. *J. Swine Health Prod.* 3, 71–73.
  44. Иветић В., Савић Б., Валтер Д., (2004). Мултисистемски синдром кржљања прасади после одлучења (PMWS) као један од облика цирковирусне инфекције. *Ветеринарски гласник* 409-419, Вол. 58, бр 3-4.
  45. Joaquim Segalés, Tuija Kekkarainen, Martí Cortey (2013). The natural history of porcine circovirus type 2: From an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Veterinary Microbiology* 165 (2013) 13–20
  46. Kekkarainen T, McCullough K, Fort M, Fossum C, Segalés J, Allan GM (2010). Immune responses and vaccine-induced immunity against porcine circovirus type 2. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 136 (3–4), 185–193.
  47. Kim J, Chung HK, Chae C (2003). Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet. J.* 166 (3), 251–256.
  48. Kim J, Jung K, Chae C (2004a). Prevalence of porcine circovirus type 2 in aborted fetuses and stillborn piglets. *Vet. Rec.* 155 (16), 489–492.
  49. Kiupel M, Stevenson GW, Kanitz CL, Anothayanontha L, Latimer KS. & Mittal K (1999). Cellular localization of porcine circovirus in postweaning pigs with chronic wasting disease. *Eur J Vet Pathol* 5, 77–82.
  50. Kixmoller M, M Ritzmann, M Eddicks, A Saalmuller, K Elbers and V Fachinger (2008). Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine*, 26 pp. 3443–3451.
  51. Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, et al. (2001). Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). *Vet Pathol*; 38:31–42.

52. Krakowka S, Hartunian C, Hamberg A, et al. (2008). Evaluation of induction of porcine dermatitis and nephropathy syndrome in gnotobiotic pigs with negative results for porcine circovirus type 2. *Am J Vet Res*; 69:1615–1622.
53. Kyriakis SC, Saoulidis K, Lekkas S, et al. (2002). The effects of immuno-modulation on the clinical and pathological expression of postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Comp Pathol*; 126:38–46.
54. Lainson FA, Aitchison KD, Donachie W, et al. (2002). Typing of *Pasteurella multocida* isolated from pigs with and without porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *J Clin Microbiol*; 40:588–593.
55. Lefebvre D, Van Reeth K, Vangroenweghe F, Castryk F, Maes D, Laitat M, Nauwynck H (2008): Serosurvey for viruses associated with reproductive failure in newly introduced gilts and in multiparous sows in Belgian sow herds. *Proceedings of the 20th IPVS Congress, South Africa, Durban*, p. 93.
56. Li L, Kapoor A, Slikas B, Bamidele OS, Wang C, Shaukat S, Masroor MA, Wilson ML, Ndjango JB, Peeters M, Gross-Camp ND, Muller MN, Hahn BH, Wolfe ND, Triki H, Bartkus J, Zaidi SZ, Delwart E (2010). Multiple diverse circoviruses infect farm animals and are commonly found in human and chimpanzee feces. *J Virol.*, 84(4):1674-82.
57. Liu Q, Wang L, Willson P, O'Connor B, Keenlside J, Chirino– Trejo M, Melendez R, Babiuk L (2002): Seroprevalence of porcine circovirus type 2 in swine populations in Canada and Costa Rica. *Can. J. Vet. Res. Revue Canadienne De Recherche Veterinaire* 66, 225–231.
58. Lopez-Soria S, Segales J, Nofrarias M, et al. (2004). Genetic influence on the expression of PCV disease. *Vet Rec*;155:504.
59. López-Soria S, Segalés J, Rose N, Vinas MJ, Blanchard P, Madec F, Jestin A, Casal J, Domingo M (2005). An exploratory study on risk factors for postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Spain. *Preventive Veterinary Medicine* 69, 97–107.
60. Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Morvan H, Albina E, Truong C, Hutet E, Cariolet R, Arnauld C, Jestin A (1999). La maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) en France 1 – Aspects descriptifs, impact en élevage. *Journées Rech. Porcine en France*. 31:347-354.
61. Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T (2009). Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial

- insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet. Pathol.* 46 (4),707–716.
62. Madson DM, Ramamoorthy S, Kuster C, et al. (2008). Characterization of shedding patterns of porcine circovirus types 2a and 2b in experimentally inoculated mature boars. *J Vet Diagn Invest* 8;20:725–734.
63. Magar R, Müller P, Larochelle R (2000). Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2. *Can J Vet Res* 64:184–186.
64. Maldonado J, Segalés J, MartínezPuig D, Calsamiglia M, Riera, Domingo M, Artigas C, (2005). Identification of viral pathogens in aborted fetuses and stillborn piglets from cases of swine reproductive failure in Spain. *Vet. J.* 169 (3), 454–456.
65. Martelli P, Ferrari L, Morganti M, De Angelis E, Bonilauri P, Guazzetti S, Caleffi A, Borghetti P (2011). One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet. Microbiol.* 149 (3–4), 339–351.
66. McIntosh KA, Harding JC, Ellis JA, et al. (2006). Detection of Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in naturally infected pigs in a farrow-to-finish barn. *Can J Vet Res*; 70:58–61.
67. McIntosh KA, Harding JCS, Parker S, Ellis JA, Appleyard GD (2006). Nested polymerase chain reaction detection and duration of porcine circovirus type 2 in semen with sperm morphological analysis from naturally infected boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 18 (4), 380–384.
68. McKeown NE, Opriessnig T, Thomas P, et al. (2005). Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005;12:1347–1351.
69. McNair I, Marshall M, McNeilly F, et al., (2004). Interlaboratory testing of porcine sera for antibodies to porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 16:164–166.
70. McNeilly F, Kennedy S, Moffett D, Meehan BM, Foster JC, Clarke EG, Ellis JA, Haines DM, Adair BM, Allan GM (1999). A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J. Virol. Methods* 80 (2), 123–128.
71. McNeilly F, McNair I, O'Connor M, Brockbank S, Gilpin D, Lasagna C, Boriosi G, Meehan B, Ellis J, Krakowka S, Allan GM (2002). Evaluation of a porcine circovirus type 2-specific antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for

- the diagnosis of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs: comparison with virus isolation, immunohistochemistry, and the polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.* 14 (2), 106–112.
72. Meerts P, Misinzo G, Lefebvre D, Nielsen J, Botner A, Kristensen CS, Nauwynck HJ, (2006). Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Vet. Res.* 26.
  73. Meerts P, Van GS, Cox E, Vandebosch A, Nauwynck HJ. (2005). Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. *Viral Immunol.* 18:333–341
  74. Merck Animal Health, Technical services bulletin (2013).
  75. Mikami O, Nakajima H, Kawashima K, et al. (2005). Nonsuppurative myocarditis caused by porcine circovirus type 2 in a weak-born piglet. *J Vet Med Sci*;67:735–738.
  76. Nawagitgul P, Harms PA, Morozov I, Thacker BJ, Sorden SD, Lekcharoensuk C, Paul PS (2002): Modified indirect porcine circovirus (PCV) type 2-based and recombinant capsid protein (ORF2)-based enzyme-linked Immunosorbent assays for detection of antibodies to PCV. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9, 33–40.
  77. Nayar GP, Hamel AL, Lin L, Sachvie C, Grudeski E, and Spearman G (1999). Evidence for circovirus in cattle with respiratory disease and from aborted bovine fetuses. *Can Vet J.* 40(4): 277–278.
  78. Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Domingo M (2004). Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virol Methods.* 117:75-80.
  79. Opriessnig T, Fenaux M, Thomas P et al., (2006b). Evidence of breed-dependent differences in susceptibility to porcine circovirus type-2-associated disease and lesions. *Vet Pathol* 43:281–293.
  80. Opriessnig T, Fenaux M, Yu S, et al. (2004). Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfecting with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus. *Vet Microbiol*;98:209–220.
  81. Opriessnig T, Madson DM, Prickett JR, Kuhar D, Lunney JK, Elsener J, Halbur PG (2008c). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine

- reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Vet. Microbiol.* 131 (1–2), 103–114.
82. Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG (2007). Porcine circovirus type 2 associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest*;19:591–615.
  83. Opriessnig T, Patterson AR, Madson DM, Pal N, Halbur PG (2009a). Comparison of efficacy of commercial one dose and two dose PCV2 vaccines using a mixed PRRSV–PCV2–SIVclinicalinfectionmodel 2–3-monthspost vaccination. *Vaccine* 27(7), 1002–1007.
  84. Opriessnig T, Ramamoorthy S, Madson DM, Patterson AR, Pal N, Carman S, Meng XJ and Halbur PG (2008b). Differences in virulence among porcine circovirus type 2 isolates are unrelated to cluster type 2a or 2b and prior infection provides heterologous protection. *J Gen Virol.* 89(Pt 10): 2482-2491.
  85. Opriessnig T, Yu S, Gallup JM, et al. (2003). Effect of vaccination with selective bacterins on conventional pigs infected with type 2 porcine circovirus. *Vet Pathol*;40:521–529.
  86. Opriessnig T, Yu S, Thacker EL, et al. (2004). Derivation of porcine circovirus type 2-negative pigs from positive breeding herds. *J Swine Health Prod*;12:186–191.
  87. Pallares FJ, Halbur PG, Opriessnig T, et al. (2002). Porcine circovirus type 2 (PCV-2) coinfections in US field cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Vet Diagn Invest*;14:515–519.
  88. Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim JK, Kim SH, Chae C (2005). Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J. Comp. Pathol.* 132 (2–3), 139–144.
  89. Pogranichnyy RM, Yoon KJ, Harms PA et al., (2000). Characterization of immune response of young pigs toporcine circovirus type 2 infection. *Viral Immunol* 13:143–153.
  90. Rodriguez-Arrijo GM, Segales J, Rosell C, Rovira A, Pujols J, Plana-Duran J, Domingo M (2003): Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 50, 99–101.
  91. Rosario K, Breitbart M, Harrach B, Segalés J, Delwart E, Biagini P, Varsani A (2017). Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the



- genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. *Arch Virol* 162(5): 1447-1463
92. Rose N, Blanchard P, Cariolet R, Grasland B, Amenna N, Oger A, Durand B, Balasch M, Jestin A, Madec F (2007). Vaccination of porcine circovirus type 2 (PCV2)-infected sows against porcine Parvovirus (PPV) and Erysipelas: effect on post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and on PCV2 genome load in the offspring. *J Comp Pathol.* 2007 Feb-Apr;136(2-3):133-44.
  93. Rosell C, Segales J, Plana-Duran J, et al. (1999). Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J Comp Pathol*;120:59–78.
  94. Rosell C, Segales J, Ramos-Vara JA, et al. (2000). Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec*;146:40–43.
  95. Rovira A, Balasch M, Segales J, Garcia L, Plana-Duran J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A, Domingo M (2002). Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J. Virol.* 76, 3232–3239.
  96. Royer RL, Nawagitgul P, Halbur PG, Paul PS (2001). Susceptibility of porcine circovirus type 2 to commercial and laboratory disinfectants. *Journal of Swine Health and Production* 281, 284.
  97. Sanchez R, Nauwynck HJ, McNeilly F et al., (2001b). Porcine circovirus 2 infection in swine fetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol* 83:169–176.
  98. Schmoll F, Lang C, Steinrigl AS, Schulze K, Kauffold J (2008): Prevalence of PCV2 in Austrian and German boars and semen used for artificial insemination. *Theriogenology* 69, 814–821.
  99. Schulze C, Neumann G, Grutze I, et al. (2003). Case report: Porcine circovirus type 2 infection in an European wild boar (*Sus scrofa*) in the state of Brandenburg, Germany. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*;110:426–428.
  100. Schulze C, Segales J, Neumann G, Hlinak A, Calsamiglia M, Domingo M (2004). Identification of postweaning multisystemic wasting syndrome in European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet Rec.* 154:694-696.

101. Segalés J, Piella J, Marco E, Mateu-de-Antonio EM, Espuna E and Domingo M (1998). Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Veterinary Record* 142: 483–486.
102. Segales J (2007). Porcine Circovirus Disease (PCVD) – Have we won the war in Europe? *Advances in Pork Production* Volume 18, p 49.
103. Segalés J (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 164, 10-19.
104. Segalés J, Allan GM, Domingo M (2005a). Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 6 (2), 119–142.
105. Segalés J, Calsamiglia M, Olvera A, Sibila M, Badiella L, Domingo M, (2005b). 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). *Vet. Microbiol.* 111 (3–4), 223–229.
106. Segales J, Domingo M. (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet Q*;24:109–124.
107. Segalés J, Rodríguez J, Resendes A, Balasch M, Sanz AJ, Plana-Durán J, Venteo A (2005c). Humoral immune responses and correlation with viraemia in pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. In: *Proc Intern Conf “Animal Circoviruses and Associated Diseases”*, Belfast, UK, p 61.
108. Segalés J., Olvera A., Grau-Roma L., Charreyre C., Nauwynck H., Larsen L., Dupont K., McCullough K., Ellis J., Krakowka S., Mankertz A., Fredholm M., Fossum C., Timmusk S., Stockhofe-Zurwieden N., Beattie V., Armstrong D., Crasland B., Baekbo P., Allan G., (2008). PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet. Rec.* 162 (26), 867–868.
109. Shibata I, Okuda Y, Kitajima K, Asai T (2006). Shedding of porcine circovirus into colostrum of sows. *J. Vet. Med. B/Zentralbl. Vet. Med. Reihe B* 53 (6), 278–280.
110. Sibila M, Calsamiglia M, Segales J, et al. (2001). Detection of porcine circovirus type 2 genome in nasal swabs and serum samples from naturally infected pigs using polymerase chain reaction. Presented at the International Conference on ssDNA Viruses of Plants, Birds, Pigs, and Primates, St Malo, France, European Society of Veterinary Virology.

111. Sibila M, Calsamiglia M, Segales J, Blanchard P, Badiella L, Le Dimna M, Jestin A, Domingo M (2004): Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 65, 88–92.
112. Sibila M, Fraile L, Ticó G, et al. (2013). Humoral response and colostral antibody transfer following ‘one-dose’ pre-mating vaccination of sows against porcine circovirus type-2. *Vet J.* 197:881–883
113. Smith WJ, Thomson JR, Done S. (1993). Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. *Vet Rec*;132:47.
114. Sorden SD (2000). Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 8:133–136.
115. Steiner E, Balmelli C, Gerber H, Summerfield A, McCullough K (2009). Cellular adaptive immune response against porcine circovirus type 2 in subclinically infected pigs. *BMC Vet. Res.* 5, 45.
116. Thibault S, Drolet R, Germain MC, D’Allaire S, Larochelle R and Magar R (1998). Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Veterinary Pathology* 35: 108–116.
117. Tischer I, Bode L, Apodaca J et al., (1995). Presence of antibodies reacting with porcine circovirus in sera of humans, mice, and cattle. *Arch Virol* 140:1427–1439.
118. Tischer I., Miels W., Wolff D., (1986). Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Arch. Virol.* 91 (3–4), 271–276.
119. Tischer I., Rash R., Tochtermann G., (1974). Characterization of papovavirus and picornavirus like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralblatt Bakteriologie, Medizinische Mikrobiologie, Parasitologie.* 226, 153–174.
120. Vicente J, Segale’s J, Hofle U, Balasch M, Plana-Duran J, Domingo M and Gortazar C (2004). Epidemiological study on porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Veterinary Research* 35: 243–253.
121. Von Richthofen I, Woolfenden N, Lischewski A, et al. (2007). Field efficacy of a PCV2 vaccine in three week old piglets in the United Kingdom. *Fifth Symposium on Emerging and Re-Emerging Pig Diseases Krakow, Poland*; p. 122.
122. Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA et al., (2000). Development and application of a competitive enzymelinked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 12:400–405.

123. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, et al. (1999). Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest*;11:530–532.
124. Xiao C.-T., Harmon K.M., Halbur P.G., Opriessnig T. (2016). PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the U.S. During 2014–2016. *Vet. Microbiol.* 197:72–77.