



**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
VETERINARSKA MEDICINA**

**SEROLOŠKI ODGOVOR PRASADI VAKCINISANE
PROTIV CIRKOVIRUSNIH INFEKCIJA 15. I 21. DANA
STAROSTI**

Doktorska disertacija

Mentor: Doc. dr Aleksandar Potkonjak

Kandidat: Dr vet. med. Ognjen Stevančević

Novi Sad, 2014. godina

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

Dr Aleksandar Potkonjak, docent, (mentor)

Uža naučna oblast: Veterinarska mikrobiologija i zarazne bolesti

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Departman za veterinarsku medicinu

(potpis)

Dr Vojin Ivetić, viši naučni saradnik, (predsednik komisije)

Uža naučna oblast: Patološka morfologija domaćih životinja

Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd

(potpis)

Dr Savić Božidar, docent, (član komisije)

Uža naučna oblast: Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Departman za veterinarsku medicinu

(potpis)

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET****KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj:
RBR

Identifikacioni broj:
IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija
TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal
TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija
VR

Ime i prezime autora: Dr. vet. med. Ognjen Stevančević
AU

Mentor: dr Aleksandar Potkonjak, docent
MN

Naslov rada: Serološki odgovor prasadi vakcinisane protiv cirkovirusnih
infekcija 15. i 21. dana starosti
NR

Jezik publikacije: Srpski
JP

Jezik izvoda: Srpski/ Engleski
JI

Zemlja publikovanja: Republika Srbija
ZP

Uže geografsko područje: AP Vojvodina
UGP

Godina: 2014.
GO

Izdavač: Autorski reprint
IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 8
MA

Fizički opis rada: 8 poglavlja/ 112 strana/7 slika/1 šema
FO
42 tabele/1 grafikon /203 reference

Naučna oblast: Veterinarska medicina
NO

Naučna disciplina: Bolesti životinja i higijena animalnih proizvoda
ND

Ključne reči: PCV2, imunitet, antitela, prasad, vakcina

Univerzalna decimalna
klasifikacija: 599.731.1: 578.24: 351.774.7
UDK

Čuva se: Biblioteka Poljoprivrednog fakulteta,
ČU Univerzitet u Novom Sadu
Važna napomena: Nema
VN
Izvod:
IZ

Cilj ovog istraživanja bio je da se na osnovu praćenja titra antitela klase G kod prasadi i tovljenika utvrdi uticaj vakcinacije na visinu titra antitela specifičnih za PCV2, kao i da se utvrdi uticaj vakcinacije na proizvodne osobine svinja.

Mere imunoprofilakse, koje se ipak smatraju nezamenljivim u kontroli ove bolesti kod nas do sada nisu bile deo kontrole, nasuprot velikom broju vakcinisanih krmača i prasadi u svetu. Iz tog razloga, kao i činjenica da u našoj zemlji nisu preduzimana ozbiljnija istraživanja, rezultati ispitivanja efikasnosti Ingelvac@ CircoFLEX vakcine proizvođača Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany, mogli bi predstavljati solidnu osnovu za eventualno uključivanje pomenute vakcine u tehnologiju preveniranja cirkovirusnih infekcija u našim zapaćtima svinja.

Ogled je urađen na 900 prasadi podeljenih u 3 grupe po 300 prasadi. Prva grupa (A) vakcinisana je 15. dana života, druga (B) 21. dana, dok je treća grupa (C) bila kontrolna. Određivanje visine titra antitela specifičnih za PCV2 utvrđeno je indirektnom ELISA metodom.

Na sam dan vakcinacije sva prasad su pokazala prisustvo antitela specifičnih za PCV2. Najveći titar antitela konstatovan je 7 dana nakon vakcinacije u grupi B i iznosio je 9,63, u grupi A 8,59, a u grupi C 7,33. Najniže prosečne vrednosti tira antitela kod vakcinisanih grupa utvrđene su 35. dana a najviše 90. dana nakon vakcinacije. U kontrolnoj grupi od momenta početka oglada prosečan titar opada kontinuirano do 60. dana, nakon čega titar antitela speifičnih za PCV2 ima tendenciju rasta. Vakcinisana prasad imala su signifikanto veći prosečni dnevni prirast (+54g/dan kod A grupe i + 60g/dan kod Bgrupe), niži mortalitet (- 1.67% kod A grupe i - 2.67% kod B grupe) i niži procenat škartova (A grupa -5.67% i B grupa -6%). u odnosu na kontrolnu grupu.

Daleko bolji rezultati dobijeni su kod prasadi iz grupe B, pa bi vakcinacija prasadi 21. dana života imala nesumnjivu prednost u odnosu na vakcinaciju 15. dana života, sa napomenom da je 15. dana života daleko veći uticaj maternalnih antitela na stvaranje i na razvoj sopstvenog imunološkog odgovora prasadi nakon vakcinacije.

U našim ispitivanjima konstatovani su povoljni efekti u svim fazama oglada, te stoga primenjena vakcina zaslućuje da bude deo svakog zdravstvenog programa koji se primenjuje u proizvodnji kvalitetnih i zdravih svinja.

Datum prihvatanja teme od strane 27.12.2013.

NN veća:

DP

Datum odbrane: _____

DO

Članovi komisije:

KO

Dr Aleksandar Potkonjak, docent, (mentor)
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Naučna oblast: Veterinarska mikrobiologija i
zarazne bolesti

Dr Vojin Ivetić, viši naučni saradnik, (predsednik)
Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Beograd
Naučna oblast: Patološka morfologija domaćih
životinja

Dr Božidar Savić, docent, (član)
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Naučna oblast: Bolesti životinja i higijena
animalnih proizvoda

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE****KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number:
ANO
Identification number:
INO
Document type: Monograph documentation
DT
Type of record: Textual printed material
TR
Contents code: PhD. Thesis
CC
Author: Ognjen Stevančević, DVM
AU
Mentor: Aleksandar Potkonjak, PhD, assistant
MN professor
Title: Serological response in piglets vaccinated at
TI 15 and 21 days old against circovirus
infection
Serbian
Language of text:
LT
Language of abstract: Serbian / English
LA
Country of publication: Republic of Serbia
CP
Locality of publication: AP Vojvodina
LP
Publication year: 2014
PY
Publisher: Author's reprint
PU
Publ. Place: Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 8
PP
Physical description: 8 chapters / 112 pages / 7 images / 1 shema
PD 42 tables / 1 graph / 203 references/
Scientific field: Veterinary medicine
SF
Scientific discipline: Animal diseases and hygiene of animal
SD production
Key words: PCV2, immunity, antibodies, piglets,
KW vaccine

| | |
|-----------------------------------|--|
| Universal decimal classification: | 599.731.1: 578.24: 351.774.7 |
| UDC | |
| Holding data: | The Library of the Faculty of Agriculture, |
| HD | Novi Sad |
| Note: | None |
| N | |
| Abstract: | |
| AB | |

The aim of this research was to determine the effect of vaccination on the amount of antibody titers specific for PCV2, and to determine the effect of vaccination on characteristics of pig production, based on the observed class G antibody titers in piglets and fattener pigs.

Immunoprophylaxis measures, that are still considered indispensable in this disease prevention have not been part of the control in our country, as opposed to a large number of vaccinated sows and piglets in the world. For this reason and the fact that significant researches are not undertaken in our country, the results of Ingelvac@ CircoFLEX vaccine efficiency testing of manufacturer Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany, could constitute a solid basis for the eventual inclusion of this vaccine in prevent technology of circovirus infections in our swine herds.

The experiment was conducted on 900 piglets divided into 3 groups of 300 piglets. The first group (A) was vaccinated at 15 days old, the second (B) at 21 days old while the third group (C) was the control group. Determining the antibody titers specific for PCV2 was performed by an indirect ELISA method.

On the day of vaccination, all pigs showed the presence of antibodies specific for PCV2. The highest antibody titer was found 7 days after vaccination in group B and was 9.63; in group A it was 8.59, while in group C the value was 7.33. The lowest values of antibody titers in vaccinated groups were found on 35th day and the highest on 90th day after vaccination. In the control group, from the moment the trial started, the average titer decreased continuously until the 60th day, after which the antibody titer specific for PCV2 tended to rise. Vaccinated piglets had significantly greater average daily weight gain (+54 g/day in group A; +60 g/day in group B), lower mortality (-1.67% in group A; -2.67% in group B) and a lower percentage of rejects (-5.67% group A; -6% group B) compared to the control group.

Group B piglets attained the best results, so the vaccination of piglets at 21 days old would have an advantage compared to vaccination at 15 days old, although we note that at 15 days old, there is a far greater influence of maternal antibodies on the creation and development of immune responses in the piglets after vaccination.

In our examinations the favorable effects at all stages of the experiment are ascertained, therefore applied vaccine deserves to be part of any health program which is applied in the production of high-quality and healthy pigs.

Accepted on Scientific

Board on:

27.12.2013

ASB

Defended:

DE

Thesis Defense board:

DB

Aleksandar Potkonjak, PhD, assistant
Professor, (Mentor)
Faculty of Agriculture, University of Novi
Sad
Scientific discipline: Veterinary microbiology
and infectious diseases

Vojin Ivetić, PhD, Senior scientific associate
(President)
Scientific Veterinary Institute of Serbia,
Belgrade
Scientific discipline: Pathomorfology of
domestic animals

Božidar Savić, PhD, assistant Professor,
(Member),
Faculty of Agriculture, University of Novi
Sad
Scientific discipline: Animal disease and
hygiene of animal production

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET
NOVI SAD
SRBIJA
DOKTORSKA DISERTACIJA
Podneta 2014.**

UDK: 599.731.1: 578.24: 351.774.7

SEROLOŠKI ODGOVOR PRASADI VAKCINISANE PROTIV CIRKOVIRUSNIH INFEKCIJA 15. I 21. DANA STAROSTI

Kratak sadržaj

Cilj ovog istraživanja bio je da se na osnovu praćenja titra antitela klase G kod prasadi i tovljenika utvrdi uticaj vakcinacije na visinu titra antitela specifičnih za PCV2, kao i da se utvrdi uticaj vakcinacije na proizvodne osobine svinja.

Mere imunoprofilakse, koje se ipak smatraju nezamenljivim u kontroli ove bolesti kod nas do sada nisu bile deo kontrole, nasuprot velikom broju vakcinisanih krmača i prasadi u svetu. Iz tog razloga, kao i činjenica da u našoj zemlji nisu preduzimana ozbiljnija istraživanja, rezultati ispitivanja efikasnosti Ingelvac@ CircoFLEX vakcine proizvođača Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany, mogli bi predstavljati solidnu osnovu za eventualno uključivanje pomenute vakcine u tehnologiju preveniranja cirkovirusnih infekcija u našim zapaćtima svinja.

Ogled je urađen na 900 prasadi podeljenih u 3 grupe po 300 prasadi. Prva grupa (A) vakcinisana je 15. dana života, druga (B) 21. dana , dok je treća grupa (C) bila kontrolna. Određivanje visine titra antitela specifičnih za PCV2 utvrđeno je indirektnom ELISA metodom.

Na sam dan vakcinacije sva prasad su pokazala prisustvo antitela specifičnih za PCV2. Najveći titar antitela konstatovan je 7 dana nakon vakcinacije u grupi B i iznosio je 9,63, u grupi A 8,59, a u grupi C 7.33. Najniže prosečne vrednosti tira antitela kod vakcinisanih grupa utvrđene su 35. dana a najviše 90.dana nakon vakcinacije. U kontrolnoj grupi od momenta početka oglada prosečan titar opada kontinuirano do 60. dana, nakon čega titar antitela speifičnih za PCV2 ima tendenciju rasta. Vakcinisana prasad imala su signifikanto veći prosečni dnevni prirast (+54g/dan kod A grupe i + 60g/dan kod Bgrupe), niži mortalitet (- 1.67% kod A grupe i - 2.67% kod B grupe) i niži procenat škartova (A grupa -5.67% i B grupa -6%). u odnosu na kontrolnu grupu.

Daleko bolji rezultati dobijeni su kod prasadi iz grupe B, pa bi vakcinacija prasadi 21. dana života imala nesumnjivu prednost u odnosu na vakcinaciju 15. dana života, sa napomenom da je 15. dana života daleko veći uticaj maternalnih antitela na stvaranje i na razvoj sopstvenog imunološkog odgovora prasadi nakon vakcinacije.

U našim ispitivanjima konstatovani su povoljni efekti u svim fazama oglada, te stoga primenjena vakcina zaslućuje da bude deo svakog zdravstvenog programa koji se primenjuje u proizvodnji kvalitetnih i zdravih svinja.

Ključne reči: PCV2, imunitet, antitela, prasad, vakcina

Doktorska disertacija je odložena u biblioteci Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu (disertacija sadrži 112 strana, 8 poglavlja, 42 tabele, 1 šema, 1 grafikon, 7 slika, 203 referenci, original na srpskom jeziku sa sažetkom na srpskom i engleskom jeziku).

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE
NOVI SAD
SERBIA
DOCTORAL DISSERTATION
Submitted in 2014.**

UDC: 599.731.1: 578.24: 351.774.7

**SEROLOGICAL RESPONSE IN PIGLETS VACCINATED AT 15 AND 21 DAYS OLD
AGAINST CIRCOVIRUS INFECTION**

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the effect of vaccination on the amount of antibody titers specific for PCV2, and to determine the effect of vaccination on characteristics of pig production, based on the observed class G antibody titers in piglets and fatter pigs.

Immunoprophylaxis measures, that are still considered indispensable in this disease prevention have not been part of the control in our country, as opposed to a large number of vaccinated sows and piglets in the world. For this reason and the fact that significant researches are not undertaken in our country, the results of Ingelvac@ CircoFLEX vaccine efficiency testing of manufacturer Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany, could constitute a solid basis for the eventual inclusion of this vaccine in prevent technology of circovirus infections in our swine herds.

The experiment was conducted on 900 piglets divided into 3 groups of 300 piglets. The first group (A) was vaccinated at 15 days old, the second (B) at 21 days old while the third group (C) was the control group. Determining the antibody titers specific for PCV2 was performed by an indirect ELISA method.

On the day of vaccination, all pigs showed the presence of antibodies specific for PCV2. The highest antibody titer was found 7 days after vaccination in group B and was 9.63; in group A it was 8.59, while in group C the value was 7.33. The lowest values of antibody titers in vaccinated groups were found on 35th day and the highest on 90th day after vaccination. In the control group, from the moment the trial started, the average titer decreased continuously until the 60th day, after which the antibody titer specific for PCV2 tended to rise. Vaccinated piglets

had significantly greater average daily weight gain (+54 g/day in group A; +60 g/day in group B), lower mortality (-1.67% in group A; -2.67% in group B) and a lower percentage of rejects (-5.67% group A; -6% group B) compared to the control group.

Group B piglets attained the best results, so the vaccination of piglets at 21 days old would have an advantage compared to vaccination at 15 days old, although we note that at 15 days old, there is a far greater influence of maternal antibodies on the creation and development of immune responses in the piglets after vaccination.

In our examinations the favorable effects at all stages of the experiment are ascertained, therefore applied vaccine deserves to be part of any health program which is applied in the production of high-quality and healthy pigs

Keywords: PCV2, immunity, antibodies, piglets, vaccine.

Doctoral dissertation is deposited in the Library of the Faculty of Agriculture in Novi Sad (the dissertation has 112 pages, 8 chapters, 42 tables, 1 shema, 1 graph, 7 images, 203 references, the original in Serbian language and its abstract in English).

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 2. PREGLED LITERATURE..... | 4 |
| 2.1. Istorijat..... | 5 |
| 2.2. Etiologija..... | 6 |
| 2.3.1. Geografska distribucija..... | 9 |
| 2.3.2. Horizontalna transmisija..... | 12 |
| 2.3.3. Vertikalna transmisija..... | 13 |
| 2.4. Patogeneza cirkovirusnih infekcija svinja..... | 14 |
| 2.4.1. Virus zavisni faktori..... | 15 |
| 2.4.2. Faktori zavisni od domaćina..... | 16 |
| 2.4.3. Efekti koinfekcija..... | 16 |
| 2.4.4. Efekat imunomodulacije..... | 17 |
| 2.5. Klinička slika i patomorfološke promene cirkovirusnih infekcija..... | 18 |
| 2.5.1. Klinička slika i patomorfološke promene PMWS-a..... | 18 |
| 2.5.2. Klinička slika i patomorfološke promene PDNS-a..... | 20 |
| 2.5.3. Klinička slika i patomorfološke promene PCV2 -Reproduktivnih poremećaja..... | 22 |
| 2.5.4. Klinička slika i patomorfološke promene PCV2 -bolesti pluća (PCV2-LD) i PCV2 enteričnog oboljenja (PCV2-ED)..... | 23 |
| 2.6. Imunitet..... | 25 |
| 2.6.1. Humoralni imunološki odgovor..... | 25 |
| 2.6.2. Čelijski imunološki odgovor..... | 26 |
| 2.7. Dijagnostika cirkovirusnih infekcija..... | 28 |
| 2.7.1. Diferencijalna dijagnostika cirkovirusnih infekcija..... | 30 |
| 2.7.2. Laboratorijska dijagnostika cirkovirusnih infekcija..... | 30 |
| 2.7.3. Detekcija PCV2 antitela..... | 31 |
| 2.8. Kontrola cirkovirusnih infekcija..... | 33 |
| 2.9. Imunoprofilaksa cirkovirusnih infekcija..... | 36 |
| 2.9.1. Imunoprofilaksa krmača i nazimica..... | 38 |
| 2.9.2. Imunoprofilaksa prasadi..... | 39 |
| 3. CILJEVI I ZADACI..... | 40 |

| | |
|---|----|
| 4. MATERIJAL I METODE | 42 |
| 4.1. Ogladne životinje | 43 |
| 4.2. Vakcina | 43 |
| 4.3. Uzorkovanje krvi | 44 |
| 4.4. Određivanje visine titra antitela specifičnih za PCV2 indirektnom ELISA metodom -INGEZIM CIRCO IgG (Ingenasa, Španija) | 45 |
| 4.5. Određivanje uticaja vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja | 48 |
| 4.6. Statistička obrada podataka | 48 |
| 5. REZULTATI | 49 |
| 5.1. Nivo antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi | 50 |
| 5.2. Uticaj vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja | 73 |
| 6. DISKUSIJA | 77 |
| 7. ZAKLJUČAK | 81 |
| 8. LITERATURA | 83 |

SPISAK SKRAĆENICA

ADV – *virus bolesti Aujeckog*

AVV – *adeno-associated virus*

CPV – *canine parvovirus*

DNA - *dezoksiribonukleinska kiselina*

ELISA - *enzyme Linked Immunosorbent Assay*

FPK – *fetal porcine kidney*

HA - *hemaglutinacija*

HI – *inhibicija hemaglutinacije*

Ig - *imunoglobulin*

MVM – *minut virus miša*

NS – *nestrukturni protein*

PCR - *lancana reakcija polimeraze*

PCV – *porcine cirkovirus*

PMWS – *postweaning multisystemic wasting syndrome*

PPV – *porcine parvovirus*

PRRSV – *porcine reproductive and respiratory syndrome virus*

RID – *radijalna imunodifuzija*

RNA - *ribonukleinska kiselina*

SMEDI – *stillbirth, mummification, embryonic death, and infertility*

SN – *serum neutralizacioni*

VP – *virusni protein*

1. UVOD

Cirkovirusne bolesti spadaju u najnovije bolesti svinja sa kojima se suočila veterinarska operativa u poslednje vreme i smatraju se najkontraverznijom bolešću u patologiji ove vrste domaćih životinja. Svinjski cirkovirus tip 2 (*Porcine circovirus type 2*; PCV2) je ubikvitaran virus domaćih i divljih svinja i primarni je uzročnik ove bolesti svinja. Veće interesovanje za cirkovirusne infekcije počelo je nakon pojave sindroma multisistemskog slabljenja prasadi nakon zalučenja (*Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome*; PMWS) u Kanadi 1991.godine, a retrospektivna istraživanja su pokazala njihovo postojanje krajem šezdesetih godina.

U grupu cirkovirusnih bolesti pored PMWS-a spadaju i poremećaji u reprodukciji, dermatitis nefropatski sindrom (*Porcine dermatitis nephropathy syndrome*; PDNS), kao i respiratorni i enterični oblik ove bolesti. Danas se ovi patološki entiteti jednim imenom nazivaju cirkovirusna oboljenja svinja (*Porcine circovirus associated diseases*; PCVAD) (Segales i sar., 2005a; Segales i sar., 2009). Na osnovu novih saznanja o patologiji ove bolesti predložena je nova terminologija, te su danas u veterinarskoj praksi poznati subklinički oblici cirkovirusne infekcije, zatim PCV2 sistemsko oboljenje (*Porcine circovirus systemic disease*; PCV-2-SD), respiratorni oblik PCV2 bolesti (*Porcine circovirus lung disease*; PCV-2-LD), enterični oblik (*Porcine circovirus enteric disease*; PCV2-ED), sve češći reproduktivni oblik (*Porcine circovirus reproductive diseases*; PCV2-RD), i dermatitis nefroza sindrom (PDNS) (Segales, 2012).

Izvor zaraze su uglavnom bolesne životinje, a kliničke manifestacije zavise od organskog sistema koji je zahvaćen. Koji od sistema će biti zahvaćen, pa samim tim i koji će se manifestni oblik javiti, nije moguće predvideti. No bilo koji da je u pitanju, štete, kako direktne tako i indirektne uvek su veoma značajne i ugrožavaju svaku racionalnu proizvodnju svinja (Gagrčin, 2009). U svemu tome PMWS je ekonomski najznačajnija bolest. Utvrđeno je da direktni i indirektni troškovi na nivou godine u EU iznose oko 600 miliona evra (Armstrong i Bishop, 2004). U SAD, ova bolest je koštala proizvođače u proseku 3-4 dolara po svinji, sa maksimalnim gubicima u rasponu i do 20 dolara (Gillespie i sar., 2009). Tokom prošle decenije PMWS je prijavljen u svetu na svim kontinentima osim Okeanije (Segales i Domingo, 2002). Ovaj sindrom kao jedan od oblika cirkovirusnih infekcija proširen je u populaciji svinja u Republici Srbiji i javlja se kod svinja starih 6 - 16 nedelja (Ivetić i sar., 2004; Gagrčin, 2009).

Karakterističnu kliničku sliku PMWS-a, a zavisno od stadijuma progresije, čine profuzan proliv, zaostajanje u porastu, krljžavost, dispneja, ikterus, otok očnih kapaka, limfadenopatija i nepovoljan ishod kod prasadi na antimikrobnu terapiju. Zakržljala prasadi se ne mogu oporaviti i moraju se isključiti iz zapata (Ivetić i sar., 2004; Chae, 2005; Segales i sar., 2004a). Mortalitet se obično kreće oko 10%, a da bi se zapazio kompletan spektar organskih lezija, postmortalno je potrebno pregledati 10-15 prasadi.

Što se tiče kontrole PCVAD, postoji vreme pre i posle uvođenja komercijalnih vakcina u periodu između 2004-2006 godine (*Baekbo i sar., 2012*). Kontrola ovih infekcija je vrlo složena i teška. Kontraindikovano je korišćenje bilo kakvih lekovitih sredstava (antibiotika, hemioterapeutika i dr.), što doprinosi da kontrola bude još složenija. Ona obuhvata kontrolu svih kofaktora koji doprinose pojavi bolesti uz nastojanje njihove eliminacije. U tom smislu korekcija menadžmenta podrazumeva obaveznu meru, zatim kontrolu takozvanih "okidača"- mikoplazmi, PRRS-a (*Porcine reproductive and respiratory syndrome*), PPV-a (*Porcine parvovirus*), primenu imunomodulatora, hiperimunih seruma i dr. Međutim, imunoprofilaksa u smislu aplikacije određenih vakcina ima najvišu primenu (*Llorenc Grau-Roma i sar., 2011*).

Uvođenje PCV2 vakcina značajno je promenilo uticaj cirkovirusa na proizvodnju svinja na globalnom nivou, na šta ukazuje veliki broj konferencija, apstrakta i radova koji dokumentuju veliku korist od vakcina (*Kixmoller i sar., 2008; Opriessnig i sar., 2008a; Cline i sar., 2008*). Vakcinacija krmača i prasadi povećava titar PCV2 antitela u serumu i kolustrumu i štiti prasadi od razvoja PMWS-a (*Joisel i sar., 2007; Opriessnig i sar., 2009a*). Danas postoji nekoliko vrsta vakcina koje se koriste u kontroli ovih infekcija u mnogim zemljama sa razvijenim svinjarstvom (žive, inaktivisane, subjedinične). Najuspešnije vakcine su one bazirane na indukciji aktivnog imunološkog odgovara na kapsidni protein PCV2. Ovaj protein je označen kao glavni imunogen, indukujući stvaranje zaštitnih antitela (*Kixmoller i sar., 2008; Tacker i sar., 2008*). Uspešnom vakcinacijom smatra se ona koja ima za posledicu smanjenje kliničkih oblika bolesti, kao i prevenciju tkivnih ozleđa. Vreme vakcinacije često se dovodi u pitanje s obzirom da se u velikom broju radova navodi da postoji mogućnost interferencije kolostralnih i vakcinalnih antitela, čemu ide u prilog i velika šarolikost u vremenu aplikacije vakcina koju predlažu farmaceutske kuće (Porcilis PCV aplikuje se trećeg dana života prasadi, Ingelvac CIRCOFLEX kod starijih od dve nedelje, a Suvaxin kod starijih od 4 nedelje). (*Fort sar., 2009a; Cline i sar., 2008*).

Mere kontrole ovih infekcija, u našim uslovima, uglavnom se svode na zoohigijenske mere kojim se poklanja nesto više pažnje nego obično, sa uglavnom promenljivim rezultatima. Mere imunoprofilakse, koje se ipak smatraju nezamenljivim u kontroli ove bolesti kod nas do sada nisu bile deo kontrole, nasuprot velikom broju vakcinisanih krmača i prasadi u svetu. Iz tog razloga, kao i činjenica da u našoj zemlji nisu preduzimana ozbiljnija istraživanja, rezultati ispitivanja efikasnosti Ingelvac@ CircoFLEX vakcine proizvođača Boehringer Ingelheim, Ingelheim/Rhein, Germany, mogli bi predstavljati solidnu osnovu za eventualno uključivanje pomenute vakcine u tehnologiju preveniranja cirkovirusnih infekcija u našim zaptima svinja. Ispitivanje efikasnosti ove vakcine vršiće se ispitivanjem nivoa imuniteta (titra antitela) u krvnom serumu vakcinisanih i nevakcinisanih prasadi kao i uticajem na mortalitet, dnevni

prirast, konverziju hrane, težinu svinja na klanju i procenat škartova, čime bi dobili uvid u ekonomsku isplativost vakcine.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Istorijat

Svinjski cirkovirus je prvi put prepoznat 1974. godine kao kontaminant ćelijske strukture bubrega svinja PK-15 (ATCCCL31) (*Tischer i sar., 1974*). Izolati ovog virusa iz bubrega svinja u eksperimentalnim uslovima nisu izazivali bolest kod svinja. U Kanadi 1991. godine otkriven je novi tip cirkovirusa koji se po genetskoj strukturi i antigenski razlikuje od laboratorijskog soja. Ovaj tip cirkovirusa označen je kao uzročnik novog sindroma koji se javio kod svinja, a kasnije nazvan kao Multisistemsko slabljenje prasadi nakon zalučenja (PMWS). Avirulentan virus dobijen iz ćelijske strukture bubrega svinje nazvan je PCV1 (*Porcine circovirus type 1*), a novi cirkovirus, koji je praćen pojavom bolesti PCV2 (*Allan i sar., 1995*).

Retrospektivnim istraživanjima utvrđeno je postojanje svinjskog cirkovirusa tip 2 mnogo ranije. Prisustvo PCV2 može se pratiti unazad do 1969. godine u Belgiji (*Sanchez i sar., 2001a*), 1970. u Velikoj Britaniji (*Grierson i sar., 2004a*), 1973 u Irskoj (*Walker i sar., 2000*), 1985. u Kanadi (*Magar i sar., 2000*) i Španiji (*Rodriguez-Arrijoja i sar., 2003*). Arhivirani uzorci seruma dobijeni iz klanica u Belgiji testirani su na specifična PCV2 antitela imunoperkosidaza testom (IPMA), i utvrđeno je da su svi uzorci (50 od 1969, 50 od 1975, i 50 od 2000.godine) bili pozitivni na PCV-2 specifična antitela.

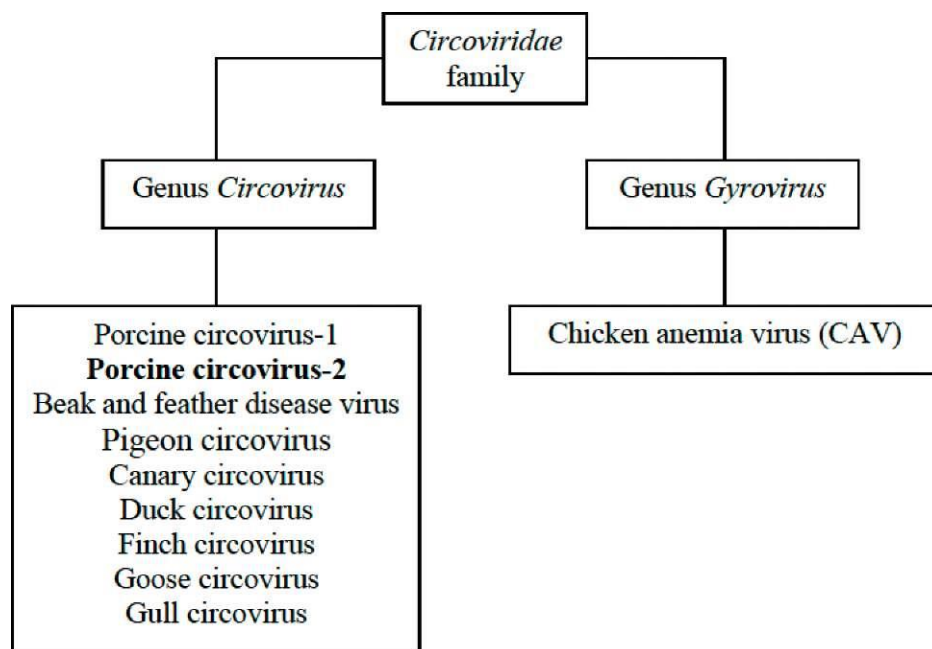
Sporadični slučajevi PMWS-a su retrospektivno identifikovani u tkivima arhiviranim pre pojave PMWS-a, u Engleskoj između 1970. i 1997. godine (*Grierson i sar., 2004a*). Specifične nukleinske kiseline su pronađene u 41% (9/22) ispitivanih uzoraka tkiva iz 1990-ih, u 31% (4/13) uzoraka iz 1980-ih, a u 32% (8/25) iz 1970. Niz analiza PCV2 sekvenci od 5 arhiviranih tkiva otkriva visoku podudarnost sa PCV2 izolatima dobijenim od 2000 svinja oboljelih od PDNS-a, implicirajući da su slični PCV2 izolati bili prisutni u Engleskoj pre više od 30 godina.

Arhivirana tkiva od 189 svinja i arhivirani serumi od 388 svinja prikupljeni u periodu od 1985. do 1997. godine u Španiji, testirani su na prisustvo PCV2 DNK *in situ* hibridizacijom (ISH) i na prisustvo PCV2- specifičnih antitela IPMA metodom. Utvrđeno je da je oko 41,3% (78/189) uzoraka tkiva bilo pozitivno za PCV2 ISH metodom, a kod 72,7% (282/388) seruma utvrđeno je da su IPMA pozitivna, što ukazuje na prisustvo enzootske infekcije u Španiji od 1985. godine (*Rodriguez-Arrijoja i sar., 2003*).

PCV2 antitela su detektovana u većini uzoraka seruma svinja prikupljenih u Severnoj Irskoj od 1973 do 1999. godine. Procenat PCV2 seropozitivnih jedinki pokazuje porast incidence u uzorcima sakupljenim u 1988 (100% 80/80) i 1999 (92,1%; 129/140) u poređenju sa 1973 (69.1%, 56/80), 1981 (61,3%; 49/80), i 1984 (55%; 44/80) (*Walker i sar., 2000*).

2.2. Etiologija

Cirkovirusi svinja pripadaju porodici *Circoviridae*, nedavno osnovanoj porodici virusa, koja se sastoji od male, ne obavijene, izometrijske DNA virusa sa kružnim, jednolančanim genomom. Danas, po Internacionalnom Komitetu za Taksonomiju Virus (ICTV), a na osnovu veličine virusa i organizacije genoma, porodica *Circoviridae* podjeljena je u 2 roda, *Circovirus* i *Gyrovirus* (www.ictvonline.org). Rod *Circovirus* se sastoji od dva tipa virusa svinja, svinjski cirkovirus tip 1 (PCV1) i tip 2 (PCV2) ali i nekoliko ptičijih virusa kao *Psittacine* kljun i perje bolesti virusa (BFDV), golubjeg cirkovirusa (PiCV), Kanarskog cirkovirusa (CaCV), guščijeg cirkovirusa (GoCV), pačjeg cirkovirusa, cirkovirusa zebe i cirkovirusa galeba (šema 1.). Iako još nisu uključeni na ICTV taksonomsku listu, prijavljeni su novi cirkovirusi kod gavrana (*Johne i sar., 2006*), čvorka (*Stewart i sar., 2006*) i labuda (*Halami i sar., 2008*). Virus anemije kokošaka (CAV), jedini je član genusa *Gyrovirus*. Uprkos početnim studijama, koje su sugerisale da se PCV infekcija može javiti kod ljudi, goveda i miševa (*Tischer i sar., 1995; Nayar i sar., 1999*), naknadne serološke pretrage su pokazale da nema dokaza o infekciji sa PCV2 kod ovih kao i kod drugih vrsta (*Allan i sar., 2000a; Ellis i sar., 2001*). Eksperimentalna infekcija ovaca i zečeva sa PCV2 nije rezultirala serokonverzijom ili razvojem lezija (*Allan i sar., 2000a; Quintana i sar., 2002*). PCV2 može izazvati PMWS kod divljih svinja (*Ellis i sar., 2003; Schulze i sar., 2004*), ali epidemiološki značaj PCV2 infekcija kod ove vrste ostaje nejasan (*Vicente i sar., 2004*).



Šema 1. Prikaz izgleda klasifikacije i taksonomije za familiju *Circoviridae*

Tipična za sve cirkoviruse je jednolančana i kružna DNA (ssDNA) male veličine (1759-2319 NTS) i ne obavijene sferne čestice virusa, prečnika od 16-18 Nm (Meehan *i sar.*, 1998). Nakon što inficira ćeliju, ssDNA se konvertuje u dvosrtruku DNK (dsDNA), koja je takođe poznata kao replikativna forma (RF). PCV sadrži šest otvorenih okvira čitanja (open reading frames; ORFs) (Mankertz *i sar.*, 1997). ORF1 protein kodira replikativno- udružene proteine koji su od esencijalnog značaja za replikaciju virusne DNA (Ilyina *i Koonin*, 1992), a ORF2 kodira glavni strukturni protein (Nawagitgul *i sar.*, 2000). *In vitro*, ORF3 protein učestvuje u virus indukovanoj apoptozi PK-15 ćelija (Liu *i sar.*, 2005). U nedavnom istraživanju, kod prasadi inficiranih sa ORF3-deficitarnim PCV2 mutantom, uočeno je smanjenje viremije i patoloških promena u odnosu na prasadi kojima je inokulisan PCV2, te se smatra da ovaj protein može imati ulogu u replikaciji i patogenosti PCV2 virusa (Karuppannan *i sar.*, 2009).

Iako postoji raznolikost u okviru PCV izolata, genetska homologija između PCV2 izolata je relativno visoka (Mankertz *i sar.*, 2000; Meehan *i sar.*, 2001). Analize PCV2 virusa iz celog sveta pokazale su identične sekvence nukleotida u preko 93%. Poređenje genomskih sekvenci PCV2 izolata sa PCV1, pokazalo je identične sekvence nukleotida u preko 80%. Ranije filogenetske analize su pokazale da PCV2 izolati poreklom iz različitih geografskih regiona imaju različite genomske sekvence (Hamel *i sar.*, 1998; Fenaux *i sar.*, 2000). Kasnije, na osnovu PCV2aa genomske sekvence, identifikovane su dve

različite PCV2 genogrupe (*Boissesson i sar., 2004; Timmusk i sar., 2005*). U zavisnosti od autora i laboratorijskih tehnika, različite nomenklature su se koristile za PCV2 genogrupe.

Do danas, na osnovu predloga EU PCVAD- konzorcijuma opisano je 5 različitih genotipova, a označavaju se slovima a, b, c, d i e. Tip a i tip b rašireni su širom sveta, dok je tip c za sada jedino prijavljen u Danskoj (*Dupont i sar., 2008*). Utvrđeno je da je PCV2c cirkulisao uglavnom 80-ih godina, PCV2a tokom 90-ih godina, a PCV2b od 2001. godine pa na dalje, što ukazuje da se dominacije genotipova sa vremenom menja (*Dupont i sar., 2008*). Drugi podtipovi opisani u Aziji (d i e) (*Wang i sar., 2009; Jantafong i sar., 2011*), možda pripadaju prethodno opisanim subtipovima a, b i c (*Cortey i sar., 2011*). Uprkos postojanju antigenskih razlika, imunitet indukovano jednim genotipom štiti jedinku od naknadne infekcije sa drugim genotipom (*Opriessnig i sar., 2008b*).

Nema mnogo informacija o biološkim i fizičko-hemijskim karakteristikama virusa PCV2, te se pretpostavlja da su identične sa karakteristikama PCV1 (stabilan pri pH 3, prema hloroformu stabilan 15 minuta pri temperaturi od 70 °C) (*Segales i sar., 2005a*). U poređenju sa koeficijentom sedimentacije govedeg enterovirusa, utvrđeno je da je koeficijent sedimentacije za PCV1 57S. PCV2 je vrlo stabilan u uslovima spoljašnje sredine, međutim, infektivnost se može smanjiti izlaganjem virusa visokim temperaturama. Nakon pasterizacije (60°C, 10'), infektivnost se smanjuje za 1,6 log, 0,75 log nakon suve termičke obrade (80°C, 72h) i 1,25 nakon ekstremno suve termičke obrade (30', 120°C) (*Welch i sar., 2006*). PCV2 se može inaktivisati alkalnim dezinfekcionim sredstvima (natrijum hidroksid), oksidirajućim agensima (natrijum hipohlorit) i kvarternim amonijumovim jedinjenjima (*Martin i sar., 2008*). PCV2 je lako izolovan iz tkiva koje je čuvano na temperaturi od -70°C (*Ellis i sar., 1998*).

2.3. Epidemiologija cirkovirusnih infekcija svinja

2.3.1. Geografska distribucija

Nakon otkrivanja cirkovirusnih infekcija 1974. godine, seroprevalence utvrđene su u Nemačkoj (*Tischer i sar., 1986*), Kanadi (*Dulac i Afshar, 1989*), Engleskoj (*Edwards i Sands, 1994*) i SAD (*Hines i Lukert, 1995*). Kako su ove studije objavljene u ranim 1990-im, ostalo je nepoznato koji je tip cirkovirusa bio prisutan. Ova početna studija pokazala je da je PCV široko rasprostranjen u populaciji svinja u ispitivanim zemljama. U kasnim 1990-im postali su dostupni dijagnostički testovi koji diferenciraju nepatogene (PCV-1) od patogenih (PCV-2) cirkovirusa, što je omogućilo dalju karakterizaciju PCV izolata. PCV su od tada identifikovani gotovo na svim kontinentima (tabela 1.), a Australija je interesantna po tome što uprkos činjenici da je virusna infekcija dokazana, ova zemlja smatra se slobodnom od PMWS-a (*Finlaison i sar., 2007*).

U Kini, urađena je analiza 49 uzoraka iz različitih regiona na tip cirkovirusa (*Wang i sar., 2009*). Rezultati iz 2001. godine (n=3) ukazuju na prisustvo samo PCV2a izolata, a izolati ispitivani između 2002. i 2006. godine predstavljaju kombinaciju PCV2a, PCV2b, PCV2d i PCV2e od čega najveći broj izolata (n=18) pripada PCV2b. Slično ovim rezultatima 2010. godine analizirano je 136 izolata iz Istočne Kine prikupljenih u periodu između 2001. i 2009. godine, od kojih je 127 pripadalo grupi PCV2b, dok samo 9 grupi PCV2a. Od ovih devet izolata osam je prikupljeno u periodu između 2001.-2004. godine (*Li i sar., 2010*).

Tabela 1. Prisustvo svinjskog cirkovirusa tip2 (PCV2) po kontinentima/državama (Patterson i . Opriessnig, 2010)

| Kontinent | Država | Referenca |
|------------------|------------------------|--------------------------------|
| Azija | Kina | Wen i sar. (2005) |
| | Indonezija | Manokaran i sar. (2008) |
| | Japan | Onuki i sar. (1999) |
| | Koreja | Choi i sar. (2000) |
| | Filipini | Maldonado i sar. (2004) |
| | Tajvan | Chang i sar. (2002) |
| | Tajland | Tantilertcharoen i sar. (1999) |
| Evropa | Austrija | Schmoll i sar. (2002) |
| | Belgija | Labarque i sar. (2000) |
| | Bugarska | Motovski i sar. (2004) |
| | Hrvatska | Jemerščić i sar. (2004) |
| | Češka | Celera i Carasova (2002) |
| | Danska | Allan i sar. (1999) |
| | Francuska | LeCann i sar. (1997) |
| | Nemačka | Hinrichs i sar. (1999) |
| | Grčka | Kyriakis i sar. (2001) |
| | Mađarska | Kiss i sar. (2000) |
| | Irska | Spillane i sar. (1998), |
| | Holangija | Wellenberg i sar. (2000) |
| | Poljska | Podgorska i sar. (2009) |
| | Rumunija | Cadar i sar. (2006) |
| | Škotska | Thomson i sar. (2000) |
| | Slovačka | Pistl i sar. (2009) |
| Španija | Segale's i sar. (1997) | |
| Švedska | Wattrang i sar. (2002) | |
| Švajcarska | Borel i sar. (2001) | |
| Velika Britanija | Done i sar. (2001) | |
| Severna Amerika | Kanada | Harding i sar. (1998) |
| | Kostarika | Liu i sar. (2002) |
| | Kuba | Pe'rez i sar. (2010a) |
| | Meksiko | Trujano i sar. (2001) |
| Okeanija | SAD | Daft i sar. (1996) |
| | Australija | Muhling i sar. (2006) |
| Južna Amerika | Novi Zeland | Kok-Mun i Hansen (2003) |
| | Brazil | Castro i sar. (2003) |
| | Venecuela | Cano i sar. (2005) |
| | Argentina | Machuca i sar. (2000), |

Istraživanja u Irskoj ukazala su na prisustvo PCV2a na pet od šest farmi klasifikovanih kao PCVAD pogođene farme, bazirane na uzorcima prikupljenim u periodu između 1997. i 2003. godine. PCVb je izolovan na farmi sa povećanim mortalitetom u poređenju sa drugih pet farmi. U daljim istraživanjima nakon 2003. godine u svim uzorcima izolovan je jedino PCVb (*Allan i sar., 2007*). Slični rezultati dobijeni su u Danskoj (*Dupont i sar., 2008*) i Britaniji (*Boisseeson i sar., 2004*) gde je PCVb izolovan iz svih ispitivanih uzoraka.

U Severnoj Americi povećanje prevalence PCVb dokumentovano je od strane nekoliko nedavnih studija. Iz 4 provincije u Kanadi u periodu između 2005-2006. godine od 83 uzorka prikupljena od PCVAD oboljelih i PCVAD ne oboljelih jedinki izolovano je 79,5% (66/83) PCV2b (*Gagnon i sar., 2007*). U daljim istraživanjima od oktobra 2006 pa do januara 2007. godine prikupljen je 121 uzorak od životinja sa i bez kliničkih znakova PCVAD i analiziran na PCV2a i PCV2b PCR metodom. Od 121-og uzorka, PCV2b je detektovan u 92,6 %, PCV2a u 4,1%, a oba podtipa utvrđena su u 3,3% uzoraka (*Gagnon i sar., 2008*).

U odnosu na prisutnost PMWS-a danas, zemlje Evrope mogu se podeliti u 5 različitih kategorija (*Segales., 2007*):

1. Zemlje u kojima je uticaj bolesti bio ili je još uvijek ozbiljan ili veoma ozbiljan. Ova kategorija može biti dalje podeljena, jer se u nekim zemljama PMWS i dalje smatra kao najznačajnije oboljenje u proizvodnji svinja (Velika Britanija, Danska, Austrija, Irska i Švedska), dok su druge zemlje imale ozbiljne probleme između 1995-2003 godine, ali je bolest danas manje evidentna (Francuska, Španija, Portugalija, Italija, Nemačka, Grčka, Češka, Mađarska, Poljska, Hrvatska, Slovenija i Holandija).
2. Zemlje u kojima uprkos prijavljivanju slučajeva PMWS-a, ova bolest ne predstavlja veliki problem ili je odsutna danas (Švajcarska, Belgija i Norveška).
3. Zemlje koje su prijavile prisustvo PMWS-a, ali nema podataka da se ustanovi važnost bolesti u njihovim populacijama svinja (kao što su Srbija, Crna Gora, Bugarska, Litvanija i Letonija)
4. Zemlje koje nikad nisu prijavile ovu bolest, kao što je Finska.
5. Zemlje sa nepoznatim statusom PMWS-a (Estonija, Albanija, Island, Makedonija, Kipar, Bosna i Hercegovina, Belorusija, Ukrajina i Moldavija).

2.3.2. Horizontalna transmisija

Oronazalni put se smatra najverovatnijim i najčešćim putem prenosa PCV2 infekcija. Ova tvrdnja dokazana je velikim brojem eksperimentalnih studija o cirkovirusnim infekcijama, koje su uglavnom koristili intranazalni put inokulacije ovog virusa (*Allan i sar., 1999; Balasch i sar., 1999; Ellis i sar., 1999; Krakowka i sar., 2000*). Iako se oronazalni put smatra najčešćim, virus PCV2 se može preneti gotovo svim sekretima i ekskretima, tonzilarnim, bronhijalnim, očnim sekretom, kao i fecesom, pljuvačkom, urinom i spermom (*Krakowka i sar., 2000; Larochelle i sar., 2000; Segalés i sar., 2005b*). Prisustvo PCV2 utvrđeno je i u kolostrumu (*Shibata i sar., 2006*), ali da li to može dovesti do infekcije i dalje je nepoznato. Osim toga virus se može preneti na prasid konzumiranjem nekuvanih tkiva viremičnih životinja (limfatičnih tkiva, skeletnih mišića i koštane srži) 3 dana za redom, što rezultira viremijom i serokonverzijom kod svih prasida (*Opriessnig i sar., 2009b*).

Direktan prenos PCV2 dokazan je između eksperimentalno i prirodno inficiranih životinja, pa uvođenje kliničkih ili subklinikih inficiranih životinja predstavlja visok rizik za populaciju svinja, dok indirektan prenos putem aerosola, vakcine ili oralnim putem je verovatno manjeg rizika za transmisiju PCV2 infekcija.

Nakon eksperimentalne infekcije svinja sa PCV2, DNA ovog virusa detektovana je u više različitih tipova uzoraka. *Caprioli i sar. (2006)* su oronazalno četiri nedelje staroj prasadi koja nisu sisala kolostrum i koja su slobodna od specifičnih patogena, inokulisali PCV2 od klinički oboljelih svinja. Krv, feces i tonzilarni brisevi prikupljeni su 1, 3, 6, 9, 12, 15 i 21-og dana nakon inokulacije. Rezultati su pokazali da je PCV2 DNA bilo pozitivno 10/12 i 11/12 svinja na tonzilarnu i fekalnu uzorke prvog dana nakon inokulacije, a interesantno je da je šestog dana nakon inokulacije samo 1/12 i 0/12 svinja bilo pozitivno na ove briseve. Zadnjeg dana ispitivanja, 21 dana nakon inokulacije, 11/12 i 11/11 jedinki bilo je PCV2 DNA pozitivno. PCV2 DNA nije utvrđena u serumu, plazmi ili punoj krvi sve do 9-og dana nakon inokulacije. U zasebnoj sudiji *Bolin i sar. (2001)* inokulisali su prasidima, dobijenim carskim rezom i lišenim kolostruma, starim 20 i 25 dana, intranazalno i subkutano PCV2 izolat dobijen od klinički oboljelih svinja kako bi utvrdili distribuciju PCV2 DNA u tkivima. Virus je izolovan iz nosnog, rektalnog i tonzilarnog brisa između 12-og i 19-og dana nakon inokulacije.

Uzorci seruma (n=57), nazalnih (n=99), tonzilarnih (n=108), traheobronhijalnih (n=72), mokraćnih (n=91) i fekalnih briseva (n=42) od 148 svinja, testirani su u cilju dobijanja kvantitativnih podataka o visini PCV2 DNK u ovim uzorcima (*Segales i sar., 2005b*). Na osnovu prisustva patohistoloških lezija i količine PCV antigena dobijene *in situ* hibridizacijom rezultati su podeljeni u 3

kategorije (PCVAD inficirane svinje, PCV2 subklinički inficirane svinje i neinficirane svinje), a na dve kategorije na osnovu starosti (< 1,5 i > 1, 5 mjeseci starosti). PCV2 je pronađen u 100% uzoraka seruma i svih briseva kod PCVAD inficiranih svinja sa signifikantno više PCV2 DNK u poređenju sa PCV2 subklinički inficiranim i neinficiranim svinjama. Pored toga, znatno više PCV2 DNK bilo je prisutno kod životinja starijih od 1,5 mesec, izuzev u tonzilarnim brisevima. Kvantitativni rezultati za PCVAD svinje kretali su se od 5 do 8 log¹⁰ genomskih kopija/ng za sve vrste uzoraka, a najveća količina PCV2 detektovana je u traheobronhijalnom brisu, zatim u serumu, tonzilarnom, nosnom, fekalnom i urinarnom brisu.

2.3.3. Vertikalna transmisija

Transplacentarna infekcija dokazana je nakon inranazalne infekcije suprasne krmače 3 nedelje pre prašenja, pri čemu je PCV2 bio prisutan i kod abortitanih i kod živorođenih prasadi (*Park i sar., 2005; Ha i sar., 2008*). Vertikalni prenos PCV2 ipak je i dalje donekle kontraverzan. Dok jedni naučnici tvrde da je to retka pojava (*Ladekjaer-Mikkelsen i sar., 2001; Maldonado i sar., 2005*), drugi navode da je 13% abortirane i mrtvorodne prasadi inficirano sa PCV2 (*Kim i sar., 2004a*). U Koreji, retrospektivnom studijom abortiranih slučajeva prijavljenih između oktobra 2000. i septembra 2002. godine, utvrđeno je da je od 320 abortiranih fetusa ili mrtvorodne prasadi, 13,1% bilo PCR pozitivno na PCV2, a virus je detektovan u fetusu u svim fazama gestacije (*Kim i sar., 2004a*). Nedavno istraživanje, sprovedeno na 5 različitih komercijalnih farmi u Meksiku i SAD je pokazalo da 39.9% (199/499) prasadi pre sisanja bilo PCV2 DNA pozitivno u serumu, sa većom frekvencom PCV2b u odnosu na PCV2a (*Shen i sar., 2010*). Ovi autori takode navode da se PCV2 infekcija može javiti kako prije tako i nakon sticanja fetalnog imuniteta. Eksperimentalno, ovo zapažanje može se reprodukovati *in utero* inokulacijom fetusa (*Johnson i sar., 2002; Sanchez i sar., 2003*). U ovoj studiji utvrđeno je da su kardiomiociti glavne target ćelije u fetalnom stadijumu, dok u postnatalnom stadijumu PCV2 se može naći u limfnom tkivu i makrofagima.

PCV2 je utvrđen u spermi prirodno i eksperimentalno inficiranih nerastova, pri čemu je najveća količina virusa utvrđena u spermalnoj tečnosti (*Larochelle i sar., 2000; Schmoll i sar., 2008*). Frekvencija PCV2 DNK u spermi prirodno inficiranih nerastova je niska i sporadična. Kod perzistentno inficiranih nerastova PCV2 se može utvrditi sve do 71. nedelje života, dok kod svinja starijih od 71. nedelje ovaj virus nije pronađen u spermi (*McIntosh i sar., 2006*). Prisustvo PCV2 DNK u spermi nerastova najverovatnije ne utiče na procenat morfološki normalnih ili živih spermatozoida. Iako je PCV2 DNK

dokazana u semenoj tečnosti, eksperimentalna potvrda o mogućem prenosu infekcije putem veštačkog osemenjavanja nedostaje do sada (*McIntosh i sar., 2006*).

2.4. Patogeneza cirkovirusnih infekcija svinja

Patogeneza cirkovirusnih infekcija i tipovi ćelija koji podržavaju PCV2 replikaciju još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni. Limfocitna deplecija i limfopenija u perifernoj krvi predstavljaju konstantan nalaz kod prasadi sa razvijenom kliničkom slikom PCVAD-a (*Allan i Ellis., 2000b; Chianini i sar., 2001*). Imunohistohemijske ili ISH tehnike, pokazuju veliku količinu PCV2 antigena ili nukleinskih kiselina u citoplazmi makrofaga i dendritičnih ćelija (*Sorden SD, 2000*). Međutim, PCV2 antigen je samo sporadično detektovan i još uvek je nepoznato da li je redukcija limfocita kod PCVAD inficirane prasadi posledica smanjene proizvodnje u koštanoj srži, smanjene proliferacije u sekundarnim limfnim tkivima ili povećanog gubitka limfocita u koštanoj srži, perifernoj krvi ili sekundarnim limfnim tkivima preko virus indukovane apoptoze ili nekroze (*Chianini i sar., 2001*). Uprkos prisustvu PCV2 u makrofagima i dendritičnim ćelijama, nedavne studije ukazuju na to da monocitne ćelije možda ne predstavljaju primarno mesto replikacije PCV2. *Vincent i sar. (2003)* slično tome navode da nema dokaza o replikaciji virusa u dendritičnim ćelijama u *in vitro* uslovima, ali da PCV2 perzistira u dendritičnim ćelijama bez gubitka infektivnosti ili indukcije ćelijske smrti. Spekulisalo se da zbog njihovog migratornog kapaciteta, dendritične ćelije mogu omogućiti transport virusa širom organizma domaćina.

Da bi se razjasnila uloga i pripisala isključivo PCV2 u nastanku cirkovirusnih infekcija, razvijen je infektivni DNA klon ovog virusa (*Fenaux i sar., 2002*). Korišćenjem infektivnog klona DNA, osigurana je čistoća i homogenost inokuluma u *in vivo* istraživanjima i dozvoljena genetska manipulacija virusa na molekularnom nivou kako bi se procenili biološki efekti genetskih promena (*Fenaux i sar., 2002; Fenaux i sar., 2004a; Opriessnig i sar., 2006a*). SPF (*specific pathogen free*) prasad inficirana sa DNA klonom PCV2 razvijaju limfocitne lezije karakteristične za PCVAD, ali progresivno mršavljenje kao jedan od karakterističnih simptoma cirkovirusnih infekcija u toku ovih istraživanja je izostao. Podaci dobijeni u ovom istraživanjima podržavaju hipotezu da je PCV2 od suštinskog značaja za razvoj PCVAD, međutim većina sojeva PCV2 verovatno zahteva druge kofaktore da izazove čitav spektar kliničkih znaka i lezija karakterističnih za cirkovirusne infekcije (*Fenaux i sar., 2002; Fenaux i sar., 2004a*). Sve ove činjenice navode na zaključak da je PCVAD multifaktorijalno oboljenje i da neće sve svinje inficirane sa PCV2 razviti kliničke simptome. Faktori za koje se trenutno smatra da mogu uticati na ishod cirkovirusnih infekcija, mogu se podeliti u 4 kategorije: virus, domaćin, koinfekcija i imunomodulacija.

2.4.1. Virus zavisni faktori

Danas je poznato da je veoma visok procenat klinički zdravih svinja, inficiran sa PCV2, dok se kod ostalih razvija ozbiljno oboljenje. Genetske analize i komparacija sekvenci PCV izolata do sada nisu uspele u potpunosti objasniti razlike u kliničkim manifestacijama. Kod 10 holandskih PCV2 izolata sa PCVAD afektiranih i ne afektiranih farmi utvrđena je identičnost sekvenci u 95,6% do 100% slučajeva (*Grierson i sar., 2004b*), što navodi autore do zaključka da kliničke manifestacije zavise od nekih drugih faktora, a ne od virusa. Istraživanje himeričnih zaraznih DNA klonova PCV1 i PCV2 omogućilo je dalji uvid o virus zavisnim faktorima. Himerični PCV1-2 DNA klon sadrži PCV2 kapsidni antigen kloniran u nepatogenom PCV1. Kada se inokulira prasadima, himerični PCV1-2 virus izaziva jak imunološki odgovor stvarajući specifična antitela na PCV2 kapsidni antigen i dovodi do smanjena virulencije virusa (nizak nivo i smanjena dužina trajanja viremije, minimalne lezije, nizak nivo virusnih antigena u limfatičnim tkivima) (*Fenaux i sar., 2004a*). Nakon 120 pasaža PCV2 u ćelijskoj kulturi, došlo je do mutacije dve aminokiseline na kapsidnom proteinu što je rezultiralo slabljenjem virusa *in vivo* (*Fenaux i sar., 2004b*). Značajne razlike uočene su u broju genomske kopije PCV2 u serumu, kao i u prirastu i mikroskopskim lezijama. Kada se inokulira divlji PCV2 soj promene su mnogo teže od onih koje nastaju nakon inokulacije 120PCV2 soja. Ove studije potvrđuju da minimalne promene u genomu PCV2 izolata mogu značajno promeniti virulenciju ovog virusa (*Fenaux i sar., 2004b*). Od kraja 2004. godine, porast incidence i promene u kliničkom ispoljavanju PCVAD (plućni edem, granulomatozni enteritis, pojačana limfocitna deplecija sa povećanim brojem inkluzionih telašaca) zabeležene su u Ontariu i Kvebeku u Kanadi. Analiza ovih izolata pokazala je promenu u tipu PCV (*DeLay i sar., 2005*). Slični izveštaji povećanja incidence i jačine bolesti povezani sa novim tipom cirkovirusa prijavljeni su u SAD (*Cheung i sar., 2007*). Interesantno je da su do tada PCV1 i PCV2 izolati u istraživanjima poređeni samo između ali ne i unutar tip 1 i 2. Nije poznato da li je povećan nalaz PCV2 tipa 1 (PCV2b) zbog promene virulencije zbog uvođenja novog tipa u oblasti ili je neki drugi faktor X doveo do pojačane replikacije virusa. Teorija faktora X podržana je retrospektivnom kohortnom studijom urađenom na 116 farmi svinja u Britaniji i studijom na Novom Zelandu gde je utvrđeno da se PMWS može prenositi direktnim i indirektnim kontaktom sa PMWS afektiranih na zdrave svinje, ali sama izloženost svinja cirkovirusu tip 2 ne dovodi do infekcije (*Green i sar., 2005; Jaros i sar., 2006*).

2.4.2. Faktori zavisni od domaćina

Svinje svih rasa podložne su PCV2 infekciji i kliničkim manifestacijama PCVAD. *Ros i sar.* (2004) su sprovedeli istraživanje pod sumnjom da je smanjena osetljivost rase Pietren na PCV2 infekcije. Polovina krmača je osemenjena sa spermom Pietrena, a druga polovina spermom koja se obično koristi na ovim farmama, ali nije primećena razlika između potomstva Pietrena i drugih svinja u smislu PCV2 serokonverzije, morbiditeta i mortaliteta. Nasuprot tome, druga sudija na dve farme kapaciteta 5000 krmača sa 3 različite očeve linije (100% Pietren, 50% Jorkšir/50%Pietren, 25% Jorkšir/ 75%Durok) pokazala je da genetika utiče na ekspresiju ispoljavanja PCVAD i povećane smrtnosti potomstva Jorkšir/Durok očeve linije u poređenju sa potomcima druge dve linije (*Lopez-Soria i sar., 2004*).

Osetljivost domaćina i njegov uticaj na ishod PCV2 infekcija nedavno su ispitivana u odnosu na 3 rase, Jorkšir, Durok i Landras. Incidenca sistemske PCVAD na osnovu kliničkih znakova i mikroskopskih lezija bila je najveća kod Landrasa 15,8% (3/19), a kod Duroka i Jorkšira 0% (0/23 i 0/21) (*Opriessnig i sar., 2006b*). Ispitivanjem replikacije PCV2 u alveolarnim makrofagima u *in vitro* uslovima, pronađena je značajna razlika između makrofaga izvedenih iz različitih rasa svinja, što ukazuje na razlike u osetljivosti na PCV2 (*Meerts i sar., 2005*). Iako su klinički i eksperimentalni dokazi minimalni, dalje istraživanje razlika u osetljivosti domaćina na PCV2 i dalje je opravdano.

2.4.3. Efekti koinfekcija

Eksperimentalne koinfekcije svinja sa PCV2 i drugim virusima kao što su PPV (*Allan i sar., 1999; Kennedy i sar., 2000; Opriessnig i sar., 2004a*), reproduktivno respiratorni sindrom (PRRS) (*Allan i sar., 1999; Harms i sar., 2001*) ili bakterija kao što je *Mycoplasma hyopneumoniae* (*Opriessnig i sar., 2004b*) dokazuju uticaj koinfekcija na povećanje incidence PCVAD-a, količine PCV2 virusa kao i karakterističnih PCV2 lezija. Ovaj efekat slučajno je otkriven kad je gnotobiotičkim svinjama inokulirana filtrirana ćelijska kultura i filtrirano limfoidno tkivo od svinje prirodno inficirane sa PCV2. Eksperimentalno inficirane svinje razvile su kliničku sliku PCVAD, a retrospektivnim istraživanjem pored PCV2 u inokulumu i u svinjama pronađen je PPV (*Ellis i sar., 1999*). *Pallare's i sar.* (2002) su u SAD ustanovili koinfekciju PCV2 sa PRRS-om u 52% (251/484) slučajeva, sa *Mycoplasma hyopneumoniae* u 36% (172/484), sa influencom svinja u 5.4% (26/484), a sama PCV2 infekcija samo u 2% (9/484) slučajeva. *Rodriguez-Arriola i sar.* (1999) dokazali su koinfekciju virusa Aujeckijeve bolesti i PCV2. Po mišljenju autora danas ne postoji nijedan kopatogen kojem se može isključivo pripisati jačanje PCV2 infekcija. U ovom trenutku čini se verovatnije da je nekoliko poznatih i nepoznatih,

patogenih i nepatogenih uzročnika koji variraju od regiona do regiona koji mogu da izazovu napredovanje PCV2 infekcija (*Pogranichniy i sar., 2002*).

2.4.4. Efekat imunomodulacije

Veliki broj studija pokazao je da imunostimulacija može da pokrene napredovanje PCV2 infekcija do bolesti i karakterističnih lezija za PCVAD. *Krakovka i sar. (2001)* su inokulišući prilepak hemocianina u nepotpunom Freundjuovom adjuvansu gnotobiotičkim svinjama uspeli izazvati klinički oblik PCVAD-a. Na osnovu ovog rada došlo je do značajnog interesa i zabrinutosti o uticaju adjuvanskih vakcina na stimulaciju PCV2 infekcija, a postoji i sve više dokaza u literaturi koji podržavaju hipotezu da uobičajena primena vakcina pod određenim uslovima može indukovati cirkovirusne infekcije (*Allan i sar., 2001; Kyriakis i sar., 2002*). Nasuprot tome drugi autori su dokazali da PCVAD mogu biti izazvane bez koinfekcije ili imunostimulacije, implicirajući da PCV2 može biti primarni uzročnik u nekim slučajevima (*Balasch i sar., 1999; Bolin i sar., 2001*).

Pored tipa vakcina koji se koriste, drugi faktori kao što su vreme aplikacije adjuvanskih vakcina i starost svinja u vreme PCV2 infekcija, takođe mogu da utiču na ishod PCV2 infekcija. *Hoogland i sar. (2006)* su izveli studiju sa ciljem da se odredi da li adjuvansi u komercijalnim vakcinama za svinje indukuju povećanu replikaciju PCV2 i povećavaju incidencu PCVAD, kao i da se odredi da li postoji razlika u ovom efektu između adjuvanasa. Svinje su vakcinisane sa 4 i 6 nedelja starosti i inokulisan im je PCV2 u 6. nedelji. Utvrđeno je da su u kasnijim fazama infekcije (35 dana nakon inokulacije) svinje vakcinisane uljnim adjuvansima imale povećano trajanje PCV2 viremije, povećanu količinu PCV2 u serumu i povećanu težinu limfoidne deplecije u odnosu na svinje vakcinisane sa vodenim ili aluminijum hidroksid produktima.

Da imunosupresija ćelijskog imuniteta može imati ulogu u etiologiji PCVAD-a dokazano je u studiji u kojoj je jednoj grupi prasadi aplikovan deksametazon intranazalno i intraperitonealno. Kod prasadi kod kojih je aplikovan deksametazon razvio se granulomatozni limfadenitis za razliku od grupe kojoj je aplikovan samo PCV2 (*Kawashima i sar., 2003*).

2.5. Klinička slika i patomorfološke promene cirkovirusnih infekcija

2.5.1. Klinička slika i patomorfološke promene PMWS-a

PMWS se najčešće javlja kod svinja u starosti od 2 do 4 meseca, mada se bolest može javiti i kod svinja u uzrastu od 1 do 6 meseci. Samo je jedan slučaj PMWS-a prijavljen kod prasadi starih 3 dana (Hirai i sar., 2001). Ovaj sindrom prisutan je gotovo na svim tipovima farmi, kapaciteta od 30 do 10000 krmača. Morbiditet i mortalitet na PMWS afektiranim farmama je promenljiv, u zavisnosti of farmi, načina držanja, menadžmenta, koinfekcija i dr. Morbiditet se kreće između 3-40% (izuzetno retko preko 50%) pri čemu je mortalitet na pogođenim farmama između 4-20% (Segale's i Domingo, 2002).

Glavni klinički znak PMWS-a je gubitak telesne težine (slika 1.), a često sa ovim simptomom su prisutni i drugi znaci, kao što su bledilo kože, otežano disanje, dijareja, otok kapaka i povremeno ikterus (Harding i Clar, 1997). Prasad imaju grubu dlaku, zauzimaju karakterističan "ukopan" ili "zamišljen" stav sa glavom oborenom na dole (Ivetić i sar., 2004). Zakržljala prasad se ne mogu oporaviti i moraju se isključiti iz zapata zbog znatne kaheksije. Istaknuta karakteristika kod svinja u ranoj kliničkoj fazi PMWS-a je povećanje potkožnih limfnih čvorova, najčešće ingvinalnih superficijanih limfnih čvorova, mada su moguće infekcije i bez ovoga simptoma (Segale's i sar., 2004b). Ređe se zapažaju neurološki simptomi.

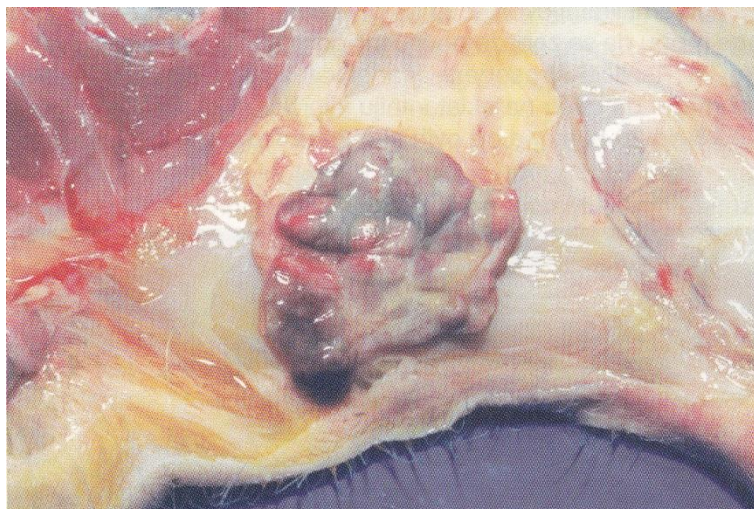
Pojedini radovi su ukazali na to, da su muška kastrirana prasad podložnija PMWS-u od prasadi ženskog pola (Corre'ge' i sar., 2001; Rodri'guez-Arrijoja i sar., 2002). Takođe Corre'ge' i sar. (2001) u svom istraživanju navode da ranije rođena prasad i prasad manje težine na zalučenju imaju veću tendenciju za nastanak PMWS-a.

Druge infekcije ili bolesti su češće prisutne na na PMWS afektiranim farmama u poređenju sa PMWS ne-afektiranim farmama (Ellis i sar., 2004). Među njima su Aujeckijeva bolest, reproduktivno respiratorni sindrom svinja (PRRS), PPV infekcije Gläserova bolest, streptokokni meningitis, salmoneloza, koli infekcije nakon zalučenja i bakterijske upale pluća. Od svih bolesti i infekcija, respiratorna forma PRRS-a predstavlja glavni problem, zbog sličnosti njihove kliničke slike i velikog procenta farmi na kojima prasad istovremeno boluju od PMWS-a i PRRS-a. Prema tome, verovatno je klinička slika na farmama pogođenim PMWS-om zbir efekata različitih bolesti koje se javljaju istovremeno.



Slika 1. Prasad obolela od PMWS-a

Na sekciji uginule prasadi najčešće se nalaze lezije na plućima i povećanje limfnih čvorova (ingvinalnih, submandibularnih, mezenteričnih i medijastinalnih). Najčešće su zahvaćeni površinski ingvinalni limfni čvorovi (slika 2.), koji na preseku pokazuju crvenosmeđu zonu protkanu slaninastim poljima. Pored ingvinalnih, svojom veličinom ističu se i mezenterijani limfni čvorovi, tako da u nekim slučajevima poprimaju dimenziju dečje podlaktice. Međutim, te lezije nisu uvek prisutne, te ne mogu služiti kao markeri za PMWS na farmi. Ovo je verovatno jedna od prvih promena kod prasadi obolelih od PMWS-a. U pojedinim slučajevima limfni čvorovi mogu imati multifokalne nekroze vidljive makroskopski. Kod određenog broja prasadi primećuju se nekrotične promene na jetri sa primetnom diskoloracijom. Kod njih je evidentna žutica. Takođe se kod iste prasadi mogu zapaziti multifokalne bele tačke u kori bubrega. Manji broj prasadi obolelih od PMWS-a mogu imati bronhopneumoniju i gastrične ulceracije u ezofagealnoj serozi koje nisu direktno vezane za cirkovirusne, nego više za sekundarne infekcije. Ove lezije izazivaju unutrašnja krvarenja koja mogu dovesti do uginuća prasadi sa PMWS-om i odgovorna su za bledilo kože. Pri kraju ovog stadijuma može se razviti kaheksija (Rosell *et al.*, 1999; Segales, 2012).



Slika 2. Potkožni ikterus i povećanje ingvinalnog limfnog čvora (Ivetić i sar., 2004)

Karakteristične mikroskopske lezije mogu se naći u limfnim čvorovima. To su jasno ograničene, sferične, bazofilne, citoplazmatične inkluzije PCV2 u histiocitima. Od hepatičnih lezija zapažene su limfocitno-histiocitne zapaljenske infiltracije u portalnoj zoni, pojedinačne nekroze hepatocita i dr. Međutim u nekim slučajevima zapaža se generalizovana perifokalna nekroza uz masovno nestajanje hepatocita. Ostale mikroskopske promene sličnog karaktera mogu se zapaziti u bubrezima, pankreasu, crevima i miokardu. Sporadično se takođe javlja umereni do žestoki granulomatozni enteritis za zadebljanim trepljama (*Opriessnig i sar., 2007; Ivetić i sar., 2004*).

2.5.2. Klinička slika i patomorfološke promene PDNS-a

Dermatitis nefropatija sindrom (PDNS) je oboljenje novijeg datuma koje uglavnom pogađa svinje stare između 5 nedelja i 5 meseci. Prevalencija sindroma u pogođenim zapatima je relativno niska, ispod 1%, a obično između 0,05%-0,5% (*Segale's i sar., 1998*). Međutim, veća prevalencija je otkrivena u Velikoj Britaniji i drugim zemljama, pri čemu se mortalitet kretao između 0,5% i 20% (*Gresham i sar., 2000*). Smrtnost kod prasadi uzrasta 3 meseca ili starijih je približno 100%, dok je kod svinja starih između 1,5 i 3 meseca mortalitet duplo manji. Svinje sa teškom akutnom bolešću umiru u roku od nekoliko dana nakon početka kliničkih simptoma. Preživjele svinje imaju tendenciju da se oporave i već nakon 7 do 10 dana vrate težinu nakon početka sindroma (*Segale's i sar., 1998*).

Kod PDNS oboljelih prasadi javlja se anoreksija, depresija, gubitak svesti, nesiguran hod, normalne temperature ili blage pireksije (*Drolet i sar., 1999*). Međutim, najočigledniji znak u akutoj fazi bolesti je prisustvo nepravilnih, crvenih papula i makula na koži, uglavnom na zadnjim ekstremitetima i perinealnoj regiji, koje imaju tendenciju da se sjedine (slika 3.). Sa vremenom lezije bivaju pokrивene tamnim krastama i postepeno blede, ponekad ostavljajući ožiljke. Uzrok smrti kod PDNS pogođenih svinja je akutna bubrežna insuficijencija, sa obično veoma značajnim povećanjem uree i kreatinina u serumu (*Smith i sar., 1993; Helie i sar., 1995*).

U koži, mikroskopskim pregledom, crveno-crnih papula i makula, može se uočiti nekrotično tkivo sa nekrotičnim vaskulitisom dermalnih i hipodermalnih kapilara i arteriola kao i opsežno krvarenje (*Helie i sar., 1995; Segale's i sar., 1998; Thibault i sar., 1998*). Nekrotični vaskulitis je sistemski, jer lezije mogu biti prisutne u svakom tkivu, iako su najizraženije u koži, bubrežnoj karlici, mezenterijumu i slezini (*Thibault i sar., 1998*).



Slika 3. Svinja oboljela od PDNS-a. Prisustvo iregularnih crvenih makula i papula, uglavnom lokalizovanih na ekstremitetima i perinealnoj regiji (*Segales i sar., 2005a*)

Osim promena na koži, kod svinja koje uginu od akutne infekcije PDNS-a bubrezi su bilateralno prošireni sa mnogobrojnim kortikalnim krvarenjima i edemom bubrežne karlice (*Helie i sar., 1995*;

Segale's i sar., 1998). Histološki može se se uočiti negnojni intersticijalni nefritis sa dilatacijom bubrežnih tubula. Najčešće, i bubrežne i kožne lezije su prisutne kod svinja koje boluju od PDNS-a, ali postoje i retki slučajevi kada se kožne ili bubrežne lezije mogu javiti same (*Segale's i sar., 1998*). Renalni limfni čvorovi, kao i drugi limfni čvorovi mogu biti uvećani i crvene boje zbog drenaže krvi iz pogođenih zona, uglavnom kože.

Mikroskopske lezije slične kao kod PMWS-a, kao što su limfocitna deplecija i određeni stepen infiltracije histiocita i multijedarnih gigantskih ćelija, često se mogu videti u limfnom tkivu PDNS afektirane prasadi (*Rosell i sar., 2000*). Infarkti slezine takođe mogu biti prisutni kao rezultat nekrotičnog vaskulitisa arterija i arteriola slezine (*Segale's i sar., 1998*).

2.5.3. Klinička slika i patomorfološke promene PCV2 -Reproduktivnih poremećaja

Reproduktivni poremećaji kod svinja izazvani cirkovirusima prvi put su opisani u kasnim 1990-im u Kanadi (*West i sar., 1999*). Klinička manifestacija gravidnih jedinki inficiranih sa PCV2 je promenljiva i zavisi od vremena virusne infekcije, dužine trajanja viremije i imunološkog statusa jedinke. Klinički simptomi koji se mogu javiti u ranom graviditetu su embrionalna smrt, iregularna povadanja i pseudograviditet (*Kim i sar., 2004a; Mateusen i sar., 2007; Josephson i Charbonneau 2001; West i sar., 1999*), a u kasnom graviditetu mrtvorodena, mumificirana, avitalna prasada, abortus i odlaganje prašenja (*Johnson i sar 2002; O'Connor i sar., 2001; Madson i sar., 2009*). Najdoslednije kliničke promene koje se mogu javiti kod PCV2 reproduktivnih poremećaja su povećanje broja mrtvorodne i mumificirane prasadi (*O'Connor i sar., 2001*). Klinički znaci reproduktivnih PCV2 poremećaja su najčešće odsutni ili inaparenti, ali nizak procenat gravidnih krmača može pobaciti usled sistemske bolesti.



Slika 4. Leglo prasadi od krmače eksperimentalno inficirano sa PCV2 u vreme inseminacije (www.pig333.com)

Mikroskopske lezije povezane sa PCV2 infekcijom fetusa su najčešće prisutne u miokardu mrtvorodne, živorođene i mumificirane prasadi (O'Connor i sar., 2001; Madson i sar., 2009). Miokard je često degenerisan, nekrotičan sa promenljivom količinom vezivnog tkiva i prisutna je infiltracija inflamatornih ćelija koju čine limfociti, plazma ćelije i makrofagi, a u manjoj meri multijedarne džinovske ćelije. Ostale promene mogu uključivati blagu multifokalnu intersticijalnu pneumoniju (Park i sar., 2005; Pescador, 2007), bronhopneumoniju, kongestiju jetre sa gubitkom hepatocita i negojni hepatitis (Brunborg i sar., 2007), kao i limfocitnu depleciju limfnih čvorova i slezine (Mikami i sar., 2005)

2.5.4. Klinička slika i patomorfološke promene PCV2 -bolesti pluća (PCV2-LD) i PCV2 enteričnog oboljenja (PCV2-ED)

Glavni klinički znaci ovih oblika PCV2 infekcija su respiratorni poremećaji (Harms i sar., 2002; Kim i sar., 2003) i dijareja (Kim i sar., 2004b; Opriessnig i sar., 2007). S obzirom su ovi klinički znaci prisutni i kod PMWS-a, potencijalno može doći do dijagnostičkog preklapanja između ovih oblika cirkovirusne infekcije (Opriessnig i sar., 2007). Limfocitna do granulomatozna intersticijalna pneumonija, peribronhijalna fibroplazija, blagi do teški nekrotični ulcerativni bronhiolitis ili proliferativna nekrotična pneumonija uz odsustvo limfatičnih lezija indikativna je za PCV2-LD. Mikroskopske lezije u limfnom tkivu nisu prisutne kod PCV2-LD za razliku od PMWS-a (Segale's, 2012). Za PCV2-ED

karakterističan je granulomatozni enteritis i limfocitna deplecija sa granulomatoznom inflamacijom u Pajerovim pločama, dok u ostalom limfnom tkivu lezije nisu prisutne (*Segale's, 2012*).

2.6. Imunitet

2.6.1 Humoralni imunološki odgovor

Kod eksperimentalno PCV2 inficiranih svinja, sa ili bez kliničkih znakova bolesti, serokonverzija se javlja između 10 i 28 dana nakon inokulacije (*Krakowka i sar., 2001; Meerts i sar., 2005*). Međutim, neke studije su utvrdile da svinje nešto kasnije razvijaju PMWS serokonverziju, kao i da je indukcija titra antitela 21. dana nakon inokulacije niža nego kod subklinički inficiranih svinja (*Bolin i sar., 2001; Rovira i sar., 2002; Meerts i sar., 2006*). *Merrts i sar.* (2006) su objavili studiju u kojoj su prasadi sa PMWS-om imale mnogo veće IgM titrove 10-tog dana nakon inokulacije i niže titrove 21. dana nego subklinički inficirane svinje. U drugoj studiji, razvoj imunoglobulina IgM kod subklinički inficiranih svinja događa se između 7. i 14. dana nakon inokulacije, svoj vrhunac dostiže 21. dana, a zatim sledi stalno opadanje sve do 49-og dana. Sa druge strane, anti-PCV2 IgG pojavljuje se kasnije od IgM, između 14. i 21. dana nakon inokulacije i titar raste sve do 69-og dana. Prisustvo PCV2 IgM je predloženo kao pokazatelj PCV2 viremije (*Fort i sar., 2007*). Praćenjem visine titra neutralizirajućih antitela kod PCV2 subklinički inficiranih svinja, dokazano je da se serokonverzija javlja od 15 dana pa nadalje nakon infekcije. Neutralizirajuća antitela (NA) su uglavnom IgG pre nego IgM, bazirano na korelaciji između izotopa dobijenim specifičnom ELISA i virus neutralizirajućim testom (*Meerts i sar., 2006; Fort i sar., 2007*).

Povećanjem titra NA, smanjuje se količina PCV2 u krvi, pa se smatra da su NA odgovorna za uklanjanje cirkovirusa iz krvi (*Fort i sar., 2009a*). Pored toga prijavljeno je da se PMWS javlja kod životinja sa niskim titrom NA protiv PCV2. Još jedna studija pokazala je da su nivoi NA u korelaciji sa kliničko patološkim statusom prirodno inficiranih PCV2 svinja. Ova zapažanja podržavaju teoriju da se akumulacija visokih titrova virusa javlja kod svinja sa slabom proizvodnjom antitela protiv PCV2 neutrališućih epitopa (*Meerts i sar., 2006*). Konformaciona antigenska mesta koja sadrže neutrališuće epitope za oba tipa cirkovirusa, PCV1 i PCV2 mapirana su na aminokiselinskom ostatku 156–162 i 175–192 u kapsidnom proteinu, dok ostaci 195–202 i 231–233 sadrže neutrališuća antigenska mesta samo za PCV2 (*Shang i sar., 2009*).

Maternalni imunitet je važan u zaštiti prasadi protiv razvoja PMWS-a, a shodno tome ova bolest se ne posmatra kod svinja mlađih od 4 nedelje (*Larochelle i sar., 2003*). U prirodnim uslovima, nivo kolostralnih antitela opada tokom laktacije i perioda odgoja, dostižući najniži nivo krajem odgoja i početkom tova (*Rodriguez-Arrijoja i sar., 2002*). Iako se nivo kolostralnih antitela protiv PCV2 razlikuje

u svinjskoj populaciji, njihova sposobnost da se u potpunosti spreči infekcija nije dokazana. *McKeown i sar.* (2005) su 12 dana starim prasadima sa različitim nivoima kolostralnih antitela aplikovali PCV2 infektivni klon. Rezultati su pokazali da visoki nivoi maternalnih antitela (ELISA S/P ratio, >0.5) pružaju određenu zaštitu, ali da u potpunosti ne štite od cirkovirusnih infekcija. Kod životinja sa niskim titrom, zaštita nije potvrđena (ELISA[S/P] ratio, <0.2). Podaci iz ove studije imaju važnu ulogu na odabir optimalnog vremena vakcinacije. Budući da većina novorođene prasadi ima kolostralna PCV2 antitela, vakcina će biti najuspešnija ako se aplikuje prasadima starim 7 do 8 nedelja, s obzirom da u tom periodu nivo kolostralnih antitela opada. Dok je za vakcinaciju svinja, bez ili sa niskim nivoima pasivno stečenih PCV2 antitela dokazan pozitivan efekat, kod prasadi sa visokim nivoima maternalnih antitela postoje suprotna mišljenja. Rezultati istraživanja iz SAD ukazuju na to da vakcina protiv PCV2 korišćena u ovoj studiji (Suvaxyn PCV2 One Dose) smanjuje viremiju i mikroskopske lezije čak i kada se koristi kod svinja sa pasivno stečenim antitelima u vreme vakcinacije (*Opriessnig i sar.*, 2007). *Ritzmann i sar.* (2008) su u nedavnoj studiji, dokazali da je vakcina Ingelvac CircoFLEX® efikasna bez obzira na nivo maternalnih antitela.

Razvoj IgG1, IgG2 i IgA antitela prati tok ukupnog povećanja titra antitela, dok nasuprot tome anti-PCV2 IgM ostaju u niskim granicama kod svinja koje razvijaju PMWS (*Meerts i sar.*, 2006). Merenjem ukupnog nivoa antitela protiv PCV2 ne može se predvideti tok infekcije, s obzirom na promenljiv procenat svinja koje ostaju viremične bez vidljiv kliničkih znakova (*Grau-Roma i sar.*, 2009). Međutim, veza između visine titra antitela i zaštite protiv PCV2 infekcija trenutno je nepoznata. Dosadašnji rezultati pokazuju da PMWS afektirana prasad pokazuju relativno slab imunološki odgovor, sa posebno neefikasnim NA odgovorom (*Kekarainene i sar.*, 2010).

2.6.2. Čelijski imunološki odgovor

Čelijski imunološki odgovor protiv PCV2 infekcija je nešto slabije proučen od humoralnog imunološkog odgovora i urođenog imuniteta. U nekoliko istraživanja analiziran je razvoj IFN- γ sekretornih ćelija (*interferon-gamma secreting cells*- IFN- γ -SC) kod konvencionalnih, kolostrum hranjenih prasadi inficiranih samo sa PCV2 (*Fort i sar.*, 2009a), kao i inficiranih sa PCV2 i parvovirusom, kao potencijalnim faktorom za razvoj PMWS-a (*Steiner i sar.*, 2009). Sve ove studije sugerišu da razvoj IFN- γ -SC može biti ključna komponenta u razvoju anti-PCV2 adaptivnog ćelijskog odgovora. PCV2 specifične IFN- γ -SC uočene su kod PCV2/PPV koinfekcije 7. dana nakon inokulacije, dok se kod prasadi koja su inficirana samo sa PCV2, IFN- γ -SC pojavljuju tek 21. dana nakon inokulacije (*Steiner i sar.*, 2009). Kod konvencionalno hranjenih svinja IFN- γ -SC se pojavljuju 14. dana nakon

inokulacije (*Fort i sar., 2009a*). Upotrebom anti-CD4 i anti CD8 antitela smanjuje se broj IFN- γ -SC , što ukazuje na ulogu CD4+ i CD8+ T ćelija u imunološkom odgovoru protiv PCV2 infekcija (*Steiner i sar., 2009*). Smanjenje koncentracije PCV2 u krvi svinja, poklapa se sa pojavom kako NA tako i PCV2 specifičnih IFN- γ -SC (*Fort i sar., 2009a*).

2.7. Dijagnostika cirkovirusnih infekcija

Danas su uspostavljeni verodostojni kriterijumi za dijagnostiku cirkovirusnih infekcija kako za individualnu dijagnostiku životinja, tako i za dijagnostiku zapata svinja (*Sorden, 2000; Segale's, 2002*). Prihvaćena definicija za PMWS na međunarodnom nivou, na osnovu rezultata individualnih pregleda životinja zasniva se na tri kriterijuma koji obuhvataju:

1. Kliničku sliku (zaostajanje u porastu, uvećani ingvinalni limfni čvorovi, dispneja i povremeno ikterus).
2. Karakteristične histopatološke lezije limfatičnog tkiva (limfocitna deplecija sa granulomatoznom inflamacijom).
3. Prisustvo umerenih do visokih količina PCV2 u limfnom ili drugom tkivu (qPCR: >106) (*Segale's i sar., 2005b; Segale's, 2012*).

S obzirom da postoje farme sa dobrim performansama koje imaju pojedine životinje koje ispunjavaju sva tri prethodna uslova, za određivanje značaja PMWS-a u zapatu potrebno je odrediti dva kriterijuma:

1. Na nivou farme pojava PMWS-a u kliničkom obliku koji se karakteriše značajnim porastom mortaliteta prasadi nakon zalučenja i slabljenja u poređenju sa rezultatima zapata u prethodnom periodu. Porast mortaliteta može se odrediti na osnovu statistički obrađenih performansi. Ukoliko ne postoje podaci o mortalitetu određenog zapata, porast mortaliteta treba da premaši nacionalni ili regionalni nivo za 50%.
2. Histološka i patološka metoda za dijagnostikovanje PMWS-a zahteva obdukciju najmanje 5 svinja po jednom zapatu. Smatra se da je ovaj broj dovoljan za otkrivanje najmanje jedne afektirane svinje sa PMWS-om kada je uzrok problema u 50% ukupno obolelih životinja sa tačnošću od 95%, nezavisno od broja obolelih. Zapat se smatra pozitivnim na PMWS kada su patološki i histološki nalazi indikovani za ovu bolest svi prisutni u isto vreme kod najmanje jedne oboljele životinje (*Gagrčin, 2009; Segale's i sar., 2005b*).

Dijagnoza PDNS- a zasniva se na dva glavna kriterijuma:

1. Prisustvo hemoragičnih i nekrotičnih lezija na koži primarno lociranih na zadnjim ekstremitetima i perinealnoj regiji i /ili otok i bledilo bubrega sa generalizovanim petehijalnim krvarenijma korteksa bubrega
2. Nalaz sistemskog nekrotičnog vaskulitisa i nekrotičnog i fibrinoznog glomerulonefritisa

Sa dijagnostičke tačke gledišta, detekcija PCV2 za sada nije uvrštena u dijagnostički kriterijum PDNS-a.

Reproduktivni poremećaji procenjuju se na osnovu 3 kriterijuma:

1. Kasni pobačaji i mrtvorodena prasad.
2. Fibrinozni do nekrotični miokarditis fetusa.
3. Umerena do visoka količina PCV2 u srcu fetusa.

Dijagnoza PCV2-LD takođe se zasniva na osnovu 3 kriterijuma:

1. Prisustvo respiratornih kliničkih znakova.
2. Limfo-histiocitna do granulomatozno intersticijalna ili bronho-intersticijalna pneumonija, peribronhiolarna fibroplazija, blagi do umereni nekrotični i ulcerozni bronhiolitis ili proliferativna nekrotična pneumonija uz odsustvo lezija u limfnom tkivu.
3. Umerena do visoka količina PCV2 u plućima.

Mikroskopske lezije u limfnom tkivu nisu prisutne kod PCV2-LD jer bi u tom slučaju bilo reč o PMWS-u (*Segale's, 2012*).

PCV2-ED se procenjuju na osnovu:

1. Dijareje
2. Granulomatoznog enteritisa i limfocitne deplecije sa granulomatoznom inflamacijom u Pajеровim pločama, ali ne i u drugim limfnim tkivima.
3. Umerena do visoka količina PCV2 u inestinalnoj mukozi /Pajеровim pločama

Dijagnoza PCV2 subkliničkih infekcija zasniva se na:

1. Odsustvu kliničkih znakova.
2. Odsustvu ili minimalnim histopatološkim lezijama u tkivu (uglavnom limfnom).
3. Mala količina PCV2 u pojedinim tkivima (limfnim).

Kriterijumi 2 i 3 potencijalno mogu biti zamijenjeni detekcijom PCV2 putem standardnog PCR-a (*Segale's i sar., 2005a; Segale's, 2012*).

2.7.1. Diferencijalna dijagnostika cirkovirusnih infekcija

Lista oboljenja koju treba uzeti u obzir prilikom diferencijalne dijagnoze za PMWS može biti veoma opsežna i zavisi od dominantnih kliničkih simptoma na svakoj farmi. Jedna od prvih na listi je respiratorna forma PRRS-a, zbog svoje široke rasprostranjenosti i sličnih kliničkih simptoma. Štaviše, sve bolesti i stanja koja dovode do gubitka težine moraju biti uzeta u obzir (*Harding i Clark, 1997*). Osim PRRS to su bolesti iz PRDC (*Porcine Respiratory Disease Complex*), zatim Glasserova bolest, klasična svinjska kuga, pseudorabies, kolibaciloza, svinjska spirohetoza debelih creva, crevna adenomatoza, *pars esophagica* ulceracije želuca i eperitrozoonoza.

Diferencijalna lista bolesti za PDNS, treba uključivati sve uzroke koji dovode do diskoloracije kože i one koji uzrokuju petehijalna krvarenja u bubregu (*Segales, 2002*). Zbog sličnosti lezija sa PDNS-om, posebno treba obratiti pažnju na afričku/svinjsku kugu, septikemični oblik salmoneloze i erisipelas.

Reproduktivni oblik PCV2 teško je razlikovati od drugih bolesti svinja koje uzrokuju pobačaje u kasnom graviditetu kao što su PRRS i pseudorabies, PPV infekcije, virus svinjske gripe, enterovirusne infekcije, klasične svinjske kuge i leptospiroze (*Segales, 2005a*).

2.7.2. Laboratorijska dijagnostika cirkovirusnih infekcija

Danas postoji nekoliko metoda koje se koriste za utvrđivanje prisustva virusa. Među njima, ISH (*in situ DNA hybridization*) i imunohistohemija su najšire prihvaćeni testovi za dijagnostiku PCVAD (*McNeilly i sar., 1999; Rosell i sar., 1999*). PCV2 nukleinske kiseline ili antigeni kod PMWS i PDNS oboljelih prasadi najčešće se mogu utvrditi u citoplazmi histiocita, multijedarnim džinovskim ćelijama i drugoj monocitno-makrofagnoj liniji ćelija kao što su alveolarni makrofagi i Kupferove ćelije (*Allan i Ellis, 2000b*). Takođe je moguće detektovati virusnu nukleinsku kiselinu ili antigen u citoplazmi respiratornog i renalnog epitela, vaskularnog endoteliuma, glatkim mišićnim ćelijama kao i ćelijama pankreasa, hepatocitima i enterocitima (*Kiupel i sar., 1999; McNeilly i sar., 1999*). Kod fetusa PCV2 se može ustanoviti u kardiomiocitima (*Sanchez i sar., 2001b*).

Izražena korelacija ustanovljena je između količine PCV2 nukleinske kiseline ili antigena i ozbiljnosti mikroskopskih limfoidnih lezija kod PMWS afektirane prasadi, što predstavlja i glavnu razliku između PMWS-a i PCV2 subkliničke infekcije svinja (*Rosell i sar., 1999*). S obzirom na ovu činjenicu, metode koje omogućavaju kvantifikaciju virusa u tkivima i/ili serumu kao što su kvantitativna PCR metoda, antigen capture ELISA i imunohistohemijske analize mogu biti veoma korisne za dijagnostiku PMWS infekcija (*McNeilly i sar., 2002; Olvera i sar., 2004*). Ovo se ne odnosi na PDNS pogođene

svinje, ali se verovatno odnosi na PCV2 reproduktivne poremećaje jer je u promjenjenim tkivima uočena visoka koncentracija virusa (*Olvera i sar., 2004; West i sar., 1999*).

2.7.3. Detekcija PCV2 antitela

Indirektni imunofluorescentni test (*Indirect immunofluorescent assay*; IFA) se koristi za utvrđivanje prisustva i određivanje visine titra antitela kod cirkovirusnih infekcija. Ova metoda utvrđivanja prisustva antitela nije automatizovana i subjektivna je. Nedavno je opisana IFA metoda bazirana na ORF2 proteinu i utvrđeno je da PCV2 bazirana IFA metoda ima veoma nisku senzitivnost (57,1%) u odnosu na IFA metodu zasnovanu na ORF2 proteinu (*Racine i sar., 2004*). Takođe, opisan je IFA test za detekciju antitela protiv nepatogenog PCV1 (*Fenaux i sar., 2003*). Studije su pokazale da postoji nizak stepen unakrsne reaktivosti između PCV1 i PCV2 kod ove metode (*Allan i sar., 1998*).

IPMA (*immunoperoxidase monolayer assay*), danas se koristi širom sveta za utvrđivanje prisustva antitela, ali ni ova metoda nije automatizovana (*Blanchard i sar., 2003*). U Kanadi i SAD obavljena su međulaboratorijska ispitivanja na 20 seruma svinja u cilju poređenja IFA i IPMA metode. U ovom istraživanju utvrđene su široke varijacije visine titra antitela u različitim laboratorijima. Generalno, IPMA metodom su detektovani viši titrovi antitela u odnosu na IFA, i paraformaldehid korišćen kao fiksativ je dao više titrove nego aceton ili etil alkohol (*McNair i sar., 2004*).

ELISA je osetljiva tehnika za otkrivanje i merenje antitela u serumu. Danas postoji nekoliko publikacija koje opisuju PCV2 ELISA metodu (*Blanchard i sar., 2003; Liu i sar., 2004; Nawagitgul i sar., 2002*). Od nedavno u Evropi su dostupni komercijalni kitovi za detekciju IgG i IgM (Ingezim PCV IgG i Ingezim PCV IgM ELISA). Poređenje IgG i IgM vrednosti može biti korisno u utvrđivanju vremena infekcije. Ukoliko je $IgM \geq IgG$ vrednosti može se konstatovati rana aktivna infekcija (u prvih 21 dan nakon infekcije), kada je $IgM < IgG$ vrednosti reč je o aktivnoj infekciji (otprilike između 20 i 50 dana infekcije), a visoke IgG i negativne IgM vrednosti ukazuju na kasnu infekciju ili period rekonvalescencije (oko 2 meseca nakon infekcije) (*Segale's i sar., 2005c*). Takođe u Evropi je dostupna kompetitivna (blocking) ELISA (SERELISA PCV2 Ab Mono Blocking), specifična za detekciju PCV2 antitela. Ova ELISA metoda može se koristiti za utvrđivanje antitela u fecesu svinja (*Walker i sar., 2000*). Osim toga, nedavno je razvijena indirektna ELISA, metoda koja se koristi za merenje titra antitela i koja se veoma dobro pokazala u proveru uspešnosti vakcinacije, a koja koristi ili rekombinadni PCV2-CAP protein ili PCV2 zaražene ćelije kao antigen (*Sibilla i sar., 2004; Blanchard i sar., 2003; Nawagitgul i sar., 2002*). Ova metode se može koristiti za praćenje PCV2 infekcije i vakcinacije u terenskim uslovima i pokazuje

dobru podudarnost sa drugim metodama za određivanje titra kao što su IPMA i IFA tehnike (*Segales i sar., 2011; Viehmann i sar., 2011*).

Serum-virus neutralizirajuća metoda takođe se koristi u detekciji PCV2 antitela. Neutralizirajuća antitela mogu se utvrditi između 15 i 28 dana nakon infekcije i odgovorna su za zaštitu i eliminaciju PCV2 kod prasadi. S obzirom da PCV2 ne izaziva vidljiv citopatogeni efekat u inficiranim ćelijama ova metoda zahteva upotrebu fluorescentnih antitela ili imunoperoksidaza bojenje kako bi se utvrdilo prisustvo ili odsustvo virusne replikacije (*Pogranichnyy i sar., 2000*).

2.8. Kontrola cirkovirusnih infekcija

Pre nego što su postale dostupne komercijalne vakcine, uspešan tretman i kontrola bolesti PCVAD primarno je je bila usmerena na obezbeđivanje dobre proizvodne prakse koje minimiziraju stres, eliminišu koinfekcije ili umanjuju njihov efekat, kao i uklanjanje potencijalnih faktora koji indukuju stimulaciju imuniteta i napredovanje PCV2 infekcija. Danas se koristi Madekov plan od 20 tačaka za kontrolu PCV2 infekcija, koji se može sumirati u 4 zlatna pravila koja uključuju: 1) ograničavanje kontakta svinja, 2) smanjenje stresa, 3) dobra higijena, 4) dobra ishrana (*Madec i sar., 1999*). Potrebno je primeniti barem 16 tačaka ovog plana kako bi se mortalitet smanjio sa 20% na jednocifren broj i to:

Prašenje:

1. *All out*/pranje/dezinfekcija/*all in*
2. Pranje krmača i dehelmintizacija pre prašenja
3. Stavljanje prasadi pod drugu krmaču ograničiti, samo kad je nužno u prvih 24 sata

Posle zalučenja:

4. Mali boksovi, čvrste, pune pregrade
5. *All out*/uklanjanje slame/čišćenje/dezinfekcija/*all in*
6. Smanjiti gustinu (3 svinje na m²)
7. Povećati širinu mesta na hranilici (+7cm/prasetu)
8. Poboljšati kvalitet vazduha (NH₃<10ppm, CO₂<0,15%)
9. Poboljšati kontrolu temperature
10. Grupe se ne mešaju

Tov:

11. Mali boksovi, čvrste, pune pregrade
12. *All out*/uklanjanje slame/čišćenje/dezinfekcija/*all in*
13. Nema mešanja grupa iz boksova obrazovanih nako zalučenja
14. Nema mešanja tovnih svinja
15. Smanjiti gustinu (+0,75cm²/svinji)
16. Poboljšati kvalitet vazduha i temperaturu

Drugo:

17. Odgovarajući program vakcinacije
18. Logična linija kretanja unutar objekata (vazduha, životinja...)
19. Stroga higijena

20. Rano uklanjanje oboljelih svinja

Jedan od glavnih tačaka Madekovog plana jeste minimiziranje kontakta svinja, s obzirom da je direktan kontakt jedan od najčešćih puteva širenja ove infekcije u zapatu. Uspostavljanje čvrstih podela između bokseva kao i usvajanje *all in, all out* sistema širom farme preporučuje se u cilju smanjenja kontakta svinja. Karantin novonabavljenih svinja ima za cilj da spreči unošenje novih infekcija (*Rose i sar., 2003*).

Važan element u kontroli PCV2 infekcija jeste suzbijanje pojedinih oboljenja kao što su PPV, PRRS, enzootska pneumanija i svinjski grip, koje pojačavaju ozbiljnost PCV2 indukovanih lezija. Studije o faktorima rizika za PCVAD na 62 farme u Španiji ukazale su da vakcinacija nazimica protiv PRRS-a povećava šanse za izbijanje cirkovirusnih oboljenja, dok nasuprot tome vakcinacija krmača protiv atrofičnog rinitisa umanjuje šanse za nastanak ovih oboljenja (*Lo'pez-Soria i sar., 2005*). Pokušaji kontrole PMWS-a vakcinacijom zapata protiv PPV-a u završnom tovu u SAD, sa dokazanom cirkulacijom PPV bili su uspešni. Ipak ti pozitivni rezultati nisu eksperimentalno potvrđeni. Primena imunomodulatora nije sporna ni u jednom segmentu, ali je ipak napuštanje primene nekih vakcina i sanitarnih programa prevelik rizik. Iz tog razloga, a na osnovu raspoloživih rezultata, proizvođači svinja u PCVAD pozitivnim zapatima trebalo bi da uzmu u obzir određivanje približnog vremena pojave PCV2 infekcija sa ciljem izmene vremena vakcinacije kao potencijalnog plana minimizacije bolesti (*Gagrčin, 2009*).

Upotreba dezinficijensa u zgradama i transportnim sredstvima pokazala su se efikasna i preporučuju se u kontroli PCV2 infekcija. Smanjenje titra virusa *in vitro* utvrđeno je sa natrijum hidroksidom, Virkon S, Roccal D Plus, Clorox bleach, 1-Stroke Environ, Fulsan i Tek-Trol u kontrolisanim laboratorijskim uslovima (*Royer i sar., 2001*). Efikasnost dezinfekcionih sredstava u komercijalnim uslovima nije poznata. U istraživačkom centru Iowa State Univerziteta obično se primjenjuje sledeći protokol: sobe i boksevi prekrivaju se deterdžentom u razblaženju 1:64, a nakon 10 minuta deterdžent se ispira toplom vodom pod pritiskom. Dekontaminacija nastaje primenom Virkon S u razblaženju 1:30 i trajanju od 10 minuta posle čega sledi ispiranje toplom vodom. Pre ulaska novih svinja soba se pokriva sa Clidox-S i ostavlja da se osuši. Da bi se smanjila korozija vrši se ispiranje nako 6 do 12 sati (*Royer i sar., 2001*).

Subkutana inekcija PCV2 hiperimunog seruma prasadi na sisi i zalučenoj prasadi pokazala se uspešnom u smanjenju mortaliteta na farmama sa PMWS-om u Francuskoj, Španiji i Velikoj Britaniji (*Ferreira i sar., 2001; Waddilove i Marco, 2002*). Ipak, uspešnost ove procedure je varijabilna, jer na

nekim farmama nije dala rezultate. Štaviše nedavne studije pokazale su da ne postoji nikakva korist od primene hiperimunih seruma (*Hassing i sar., 2006; Opriessnig i sar., 2006c*). Mehanizam delovanja terapije hiperimunim serumima nije dovoljno razjašnjen.

Delimična kontrola PMWS-a na pojedinim farmama u Velikoj Britaniji postignuta je promenama u ishrani oboljelih svinja (*Donadeu i sar., 2003*). Ove promene uključuju povećanje gustine hrane za mlade svinje i dopunu komercijalnih aditiva, uglavnom sa antioksidativnim efektima. Neka ispitivanja su pokazala da konjugovana linoleinska kiselina ublažava PCV2 eksperimentalne infekcije (*Bassaganya-Riera i sar., 2003*). Sa druge strane predloženo je da dodatak vitamina E i/ili selena u hrani mogu biti od koristi na farmama pogođenim PMWS-om (*Baebko i sar., 2004*). Iako ovi preliminarni rezultati, kako ogledni, tako i terenski, pokazuju da određeni nutritivni faktori mogu da ublaže posledice od PMWS-a, još uvek nema dovoljno naučnih informacija da bi se utvrdili pravi efekti ishrane kod ove bolesti.

2.9. Imunoprofilaksa cirkovirusnih infekcija

Danas postoji nekoliko komercijalnih vakcina koje se koriste za prevenciju PCVAD-a kod svinja, i sve su bazirane na PCV2a genotipu. Circovac® (Merial) vakcina je sastavljena od inaktivisanog PCV2a virusa i koristi se za vakcinaciju prasadi starijih od 3 nedelje kao i vakcinaciju krmača i nazimica. Aplikacija ove vakcine kod prasadi je jednokratna, dok vakcinacija krmača i nazimica zahteva dve aplikacije, jednu 3-4 nedelje pre osemenjavanja, a drugu 2-4 nedelje pre prašenja. Ingelvac CircoFLEX® (Boehringer Ingelheim), Circumvent® (Intervet/Merck), i Porcilis® PCV (Schering-Plough/Merck) su subjedinične vakcine bazirane na PCV2 kapsidnom proteinu i koriste se kod prasadi starijih od 2 nedelje, izuzev Porcilis® PCV (Schering-Plough/Merck) koja se koristi kod prasadi starije od 3 dana (tabela 2). Fosteratm PCV (Pfizer Animal Health Inc.) je vakcina nedavno predstavljena na tržištu, sada prerađena, a ranije poznata kao Suvaxyn® PCV2 One Dose™ (Fort Dodge Animal Health Inc.) (Nathan i sar., 2012). Komercijalne vakcine su prikazane u tabeli 2.

U Evropi, primeri zemalja sa visokom stopom vakcinacije (>80%) su Nemačka, Velika Britanija, Irska, Austrija i Švajcarska, dok Rusija, Danska i Poljska imaju nisku stopu vakcinacije (< 30%). SAD, Kanada, Meksiko i Čile imaju veoma visoku stopu (80–98%), kao i Koreja i Japan (70–90%), dok Kina i Vijetnam imaju veoma nisku stopu vakcinacije (<5%). Interesantno je da je 34% prasadi vakcinisano u Australiji čak i pre nego što je PMWS dijagnostikovao po prvi put (O’Dea i sar., 2011).

Efikasnost komercijalno dostupnih PCV2 vakcina opsežno je testirana u kontrolisanim eksperimentalnim uslovima. Zbog ograničenih slučajeva kliničkih oboljenja izazvanih samo sa PCV2 virusom, većina studija ispitivanja efikasnosti PCV2 vakcina koristi model koinfekcija sa dva ili tri uzročnika. Upotreba modela koinfekcije ima prednost, s obzirom da približno odgovara terenskim uslovima u kojima pojedini uzročnici bolesti svinja mogu da doprinesu razvoju kliničkog oblika PCVAD.

Koinfekcija sa PRRS-om povećava ozbiljnost PCV2 infekcija svinja, što dovodi do povećanog izlučivanja cirkovirusa oronazalnim putem i fecesom (Rovira i sar., 2002; Sinha i sar., 2011). Vakcinacija prasadi sa Suvaxyn® PCV2 po PCV2/PRRS modelu, indukuje stvaranje neutralizirajućih antitela uz istovremeno smanjivanje plućnih lezija i količine virusa u fecesu, serumu i limfnom tkivu, 28 dana nakon inokulacije (Opriessnig i sar., 2008c). U nekoliko studija poređena je efikasnost Suvaxyn® PCV2, Circumvent® i CircoFLEX® vakcina u raznim modelima koinfekcija. U poređenju sa nevakcinisanim svinjama, sve vakcine indukuju stvaranje neutralizirajućih antitela i redukuju količinu virusa u serumu i limfnom tkivu (Opriessnig i sar., 2009a). Koinfekcija sa *Mycoplasma hyopneumoniae* i PCV2 takođe podstiče razvoj kliničkih oblika PCVAD i korišćena je kao model za ispitivanje PCV2 vakcina. Svinje vakcinisane po ovom modelu sa Suvaxyn® i CircoFLEX® vakcinom pokazale su redukciju PCV2 virusa u serumu, redukciju limfnih lezija kao i povećanje telesne težine u odnosu na

kontrolnu grupu (Kim i sar., 2011). Različite studije ispitivanja efikasnosti vakcina pod kontrolisanim uslovima jasno dokazuju korisnost ovih komercijalno dostupnih vakcina.

Potencijalni zaštitni efekat prasadi nakon vakcinacije oslanja se na protektivnom efektu PCV2 antitela, bilo pasivno stečenih (vakcinacijom krmača), bilo aktivno indukovanih (vakcinacijom prasadi). Međutim, niske koncentracije ili odsustvo antitela nakon vakcinacije, ne znače da je životinja nezaštićena od PCV2 infekcije. Fenaux i sar. (2004a) utvrdili su da nakon vakcinacije sa himeričnim PCV1-2 virusom, nije došlo do serokonverzije kod svih svinja, ali se kod tih svinja nakon izlaganja PCV2 virusu nisu javili klinički znaci oboljenja, niti je došlo do PCV2 viremije. Ovi autori sugerišu na potencijalnu ulogu ćelijski posredovanog imuniteta u zaštiti prasadi nakon vakcinacije. Zaštitni imunitet stvoren nakon vakcinacije smanjuje mogućnost izbivanja PCV2 infekcija i očekuje se da štiti svinje u složenim terenskim uslovima (Nathan i sar., 2012). Dužina trajanja imuniteta nakon vakcinacije još nije dobro proučena. Opriessnig i sar., (2009a) navode da su NA detektabilna kod prasadi 3 meseca nakon jednokratne vakcinacije i da su vakcinisana prasada zaštićena od cirkovirusnih infekcija u poređenju sa nevakcinisanim jedinkama. Martelli i sar. (2011) pratili su serološki odgovor prasadi ELISA metodom, od momenta vakcinacije pa do 35 nedelje života. Vakcinisana i kontrolna grupa imale su slične titrove u momentu vakcinacije zbog rezidualnih maternalnih antitela, a značajno povećanje titra antitela kod vakcinisanih prasadi uočeno je dve nedelje nakon vakcinacije. Titar antitela kod vakcinisanih životinja kontinuirano se povećavao dostižući svoj pik između 6-te i 9-te (12 to 13 log₂) nedelje nakon vakcinacije, a nakon toga nivo ukupnih antitela neznatno se smanjuje, ne padajući nikad ispod 6 log₂.

Najuspešnije vakcine su one bazirane na indukciji aktivnog imunološkog odgovora na kapsidni protein (Cap) cirkovirusa tipa 2. Ovaj protein je označen kao glavni imunogen indukujući stvaranje zaštitnih antitela, za razliku od Rep proteina koji je slab imunogen (Kixmoller i sar., 2008; Opriessnig i sar., 2008c). Smatra se da CD8 T ćelije i neutralizirajuća antitela imaju ključnu ulogu u vakcinom indukovanoj zaštiti svinja protiv PCV2 (Kekarainene i sar., 2010).

Sadašnje komercijalno dostupne vakcine su bazirane na PCV2a genotipu i sve pokazuju dobru efikasnost, iako je treutno PCV2b genotip dominantan tip infekcije širom sveta. Subjedinične i inaktivisane vakcine imaju prednosti stabilnosti i bezbednosti, ali postoje i druge tehnologije vakcina koje su još u eksperimentalnoj fazi za koje je dokazano da stimulišu anti-PCV2 imunološki odgovor i sprečavaju PCV2 infekcije. To se pre svega DNA bazirane vakcine, modifikofane žive vakcine, vektorske vakcine i marker vakcine. RNK bazirana antivirusna terapija i modifikofane žive vakcine su u stanju da stimulišu i ćelijski i humoralni imunološki odgovor za razliku od subjediničnih i inaktivisanih vakcina (Beach i sar., 2011; Nathan i sar., 2012).

| | | | | |
|-------------------------|--|--|---|--|
| PCV2 Vakcine | <i>Ingelvac CIRCOFLEX®</i> | <i>Suvaxyn PCV2 One Dose</i> | <i>Porcilis PCV® Circumvent®</i> | <i>CIRCOVAC®</i> |
| Kompanija | <i>BOHRINGER INGELHEIM</i> | <i>FORT DOGE</i> | <i>INTERVET</i> | <i>MERIAL</i> |
| Antigen | PCV2 Cap protein | Inactivated PCV1-2 chimera | PCV2 Cap protein | Inactivated PCV2 |
| Licencrana za: | Prasad (2 nedelje i stariji) | Prasad (4 nedelje i stariji) | Porcilis PCV®: Prasad 3 dana i starija Circumvent®: (3 nedelje i starija) | krmače, nazimice |
| Doza | 1 ml IM jedna doza | 2 ml IM jedna doza | 2 ml IM Porcilis PCV®: Dve doze (3 dana i 3 nedelje) /Jedna doza (3 nedelje starosti) Circumvent®: Dve doze (3 i 6 nedelja starosti) | 2 ml IM Primarna vakcinacija: (3-4 nedelje prije osemenjavanja) Revakcinacija: 2-4 nedelje pre prašenja |

Tabela 2. Komercijalne PCV2 vakcine

2.9.1. Imunoprofilaksa krmača i nazimica

Vakcinacija krmača predstavlja jednu od strategija za prevenciju PCVAD kod prasadi čime se smanjuje viremija i povećava količina specifičnih neutralizirajućih antitela u kolostrumu. Pasivni imunitet u vidu maternalnih antitela pokazao je da barem delimično štiti od PCV2 infekcija. U eksperimentalnim uslovima, kod prasadi sa visokim nivoima maternalnih antitela smanjena je učestalost PCV2 viremije u odnosu na one sa niskim nivoima antitela majke, što dokazuje da je zaštita od PCV2 infekcija zavisna od visine titra antitela. Visoki titrovi generalno pružaju solidnu zaštitu od PCV2 infekcija, dok niži titrovi ne pružaju zaštitu od ovih infekcija (*McKeown i sar., 2005; Opriessnig i sar., 2008a*). Vakcinacija suprasnih krmača na farmi sa akutnim PMWS-om povećava proizvodne performanse prasadi, smanjujući smrtnost prasadi pre zalučenja i povećava telesnu težinu njihovog potomstva (*Pejsak i sar., 2010*). Takođe,

vakcinacijom krmača i nazimica povećava se broj živorođene prasadi kao i broj prasadi po krmači godišnje, a smanjuje se broj mumificirane prasadi (*Tacker i sar., 2008; Villa, 2008*). Kod PCV2 kliničkih infekcija vakcinacija pojačava imunološki odgovor, prosečan dnevni prirast i smanjuje vreme tova kod potomstva (*Kurmann i sar., 2011*). Vakcinacija krmača takođe smanjuje količinu virusa koja se prenosi sa krmača na prasad tokom gestacije i perioda sisanja, ali ne eliminiše u potpunosti izlučivanje virusa putem kolostruma (*Gerber i sar., 2011*).

2.9.2. Imunoprofilaksa prasadi

Danas se vakcine najčešće primenjuju kod zalučene prasadi i dokazano je da poboljšavaju proizvodne parametre kod svinja prirodno izloženih PCV2. Na PMWS afektiranim farmama vakcinacijom sa Circovac® vakcinom povećava se prosečan dnevni prirast i smanjuje se stopa mortaliteta prasadi nakon zalučenja (*Pejsak i sar., 2010*). Veliki broj studija dokazuju značajno smanjenje mortaliteta, dužine trajanja viremije, kao i povećanje dnevnog prirasta nakon vakcinacije sa CircoFLEX® vakcinom (*Fachinger i sar., 2008; Kixmoller i sar., 2008; Lyoo i sar., 2011*). Vreme vakcinacije prasadi je često upitno, s obzirom na moguću interakciju matrenalnih antitela koja šite od razvoja PMWS-a. Visok titar matrenalnih antitela ometa aktivnu serokonverziju nakon vakcinacije, iako vakcina signifikantno redukuje viremiju i širenje virusa (*Fort i sar., 2009b*). U studiji u kojoj je korištena Ingelvac Circoflex vakcina, nije bilo razlike u efikasnosti bez obzira da li su prasad vakcinisana u 3-oj ili 6-oj nedelji starosti, što ukazuje da matrenalna antitela nemaju značajnog uticaja (*Cline i sar., 2008*).

3. CILJEVI I ZADACI

Kako bi smo došli do bližih saznanja o efikasnosti vakcine u sprečavanju nastanka PCV2 postavili smo sledeće zadatke:

1. Odrediti titar antitela u krvnom serumu prasadi nakon vakcinacije 15. i 21. dana života
2. Odrediti dnevni prirast i konverziju u vakcinisane prasadi
3. U iste prasadi utvrditi broj prasadi zaostalih u rastu (kržljavaca) i pokušati to dovesti u vezu sa primenjenom vakcinom 15. i 21. dana života ispitivane prasadi
4. Utvrditi nivo uginuća u vakcinisane prasadi i eventualne razlike pokušati dovesti u vezu sa vakcinacijom prasadi 15. i 21. dana života

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Ogledne životinje

Ispitivanje je vršeno na farmi svinja, kapaciteta 2500 krmača, sa intenzivnim načinom držanja zatvorenog tipa u kojoj je utvrđeno prisustvo PCV2 infekcija. Ogled je urađen na 900 prasadi podeljenih u 3 grupe po 300 prasadi. Prva grupa (A) vakcinisana je 15. dana života, druga (B) 21. dana, dok je treća grupa (C) bila kontrolna. Sve ogledne životinje su bile klinički zdrave i u dobroj kondiciji. Sva prasad su obeležena ušnim markicama i tetovir brojevima.

Uslovi smeštaja i ishrane bili su u skladu farmsko-industrijskog načina držanja svinja. Prasad se zalučuju sa 28 dana, a od petog dana života u ishranu im se uključuje koncentrovana hrana (predstarter). Nakon 28 dana laktacije, krmače se prevode u bukarište, a prasad se zalučuju u odgajivalište sa kaveznim sistemom držanja. U odgajivalištu se prasad zadržava do uzrasta od 75 dana, kada se prebacuju u tovilište i tu ostaju do uzrasta od 6 meseci. Priplodni podmladak se odvaja i prebacuje u repro centar, a ostale životinje se zadržavaju u tovilištu do završetka tova.

Sve krmače i nazimice se pre pripusta vakcinišu protiv klasične kuge svinja, Aujeckijeve bolesti i parvoviroze svinja. Nazimice i krmače nemaju kontakt pre dolaska u prasilište. Plotkinje se u prasilištu drže u ukleštenju, hrane se dva puta dnevno, a uzimanje vode je po volji. U svakom boksu se nalazi grejalica, koja novorođenim prasadima obezbeđuje optimalnu temperaturu od 33-35°C.

Prasad treći dan života dobijaju intramuskularno antianemik i tada se muška prasad kastrira. Prasad se 7. i 21. dana života vakcinišu protiv mikoplazmatskih infekcija. Ishrana prasadi u odgajivalištu je po volji, nastavljaju da jedu predstarter do 40. dana života, a onda prelaze na starter. Prasad se u uzrastu od 42 do 45 dana vakcinišu protiv klasične kuge svinja i Aujeckijeve bolesti, a sa 90 dana se revakcinišu u tovilištu.

4.2. Vakcina

Za vakcinaciju prasadi protiv cirkovirusnih infekcija upotrebljena je vakcina Ingelvac®

CircoFLEX™ proizvođača Boehringer Ingelheim Vetmedica (slika 5.), licencirana za prasad stariju 2 nedelje. Ingelvac CircoFLEX je rekombinanta ORF2 subjedinična vakcina koja sadrži PCV2 antigen. Ova vakcina aplikovana je intramuskularno u predelu vrata u dozi od 1ml, oglednim prasadima iz grupe A (15. dana) i B (21.dana).



Slika 5. Vakcina Ingelvac CircoFLEX

4.3. Uzorkovanje krvi

Uzimanje uzoraka krvi od 42 praseta (iz sve tri ogleadne grupe od po 14 prasadi) urađeno je u cilju dobijanja uzoraka krvnih seruma za određivanje visine titra antitela.

Uzorkovanje krvi kod prasadi vršeno je na dan početka eksperimenta (15. dana života kod grupe A, 21. dana kod grupe B, i 21. dana kod grupe C), a zatim 7, 14, 21, 28, 35, 60, 90 i 120 dana nakon prvog uzorkovanja. Krv je uzeta punkcijom brahiocefaličnog pleksusa životinja (slika 6.).



Slika 6. Vađenje krvi kod prasadi

Uzorci krvi sakupljeni su u količini oko 9ml u vakutajnere sa aktivatorom koagulacije i u ručnom frižideru dopremani do laboratorije. Krvni serum je izdvajan nakon koagulacije i centrifugiranja. Uzorci seruma čuvani su na -20°do ispitivanja. Laboratorijska ispitivanja su izvršena na Poljoprivrednom Fakultetu u Novom Sadu.

4.4. Određivanje visine titra antitela specifičnih za PCV2 indirektnom ELISA metodom -INGEZIM CIRCO IgG (Ingenasa, Španija)

INGEZIM CIRCO IgG je indirektna ELISA (slika 7.) za detekciju PCV2 i/ili određivanje titra antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu svinja.

Princip testa:

Antigen (PCV rekombinantni protein) je fiksiran na čvrstoj polistirenskoj mikroploči. Kada uzorak seruma sadrži specifična antitela protiv seruma oni će se vezati za antigen fiksiran na ploči, a ako uzorak seruma ne sadrži specifična antitela, neće doći do vezivanja. Kada dodamo specifična monoklonska antitela protiv svinjskih imunoglobulina (konjugat sa peroksidazom) ona će vezati specifična antitela iz seruma, a ukoliko antitela nisu prisutna u serumu konjugat će biti eliminisan u sledećem koraku ispiranja. Nakon ispiranja ploče, da bi se eliminisao ne fiksirani materijal, možemo otkriti prisustvo ili odsustvo konjugata dodajući specifični supstrat koji će u prisutvu peroksidaze razviti kolorimetrijsku reakciju.



Slika 7. INGEZIM CIRCO IgG kit (Ingenasa, Španija)

Opis postupka:

Prvo smo napravili rastvor za ispiranje tako, da smo na jedan deo koncentrovanog rastvora dodali 24 dela destilovane vode (40ml koncentrovanog rastvora sa 960ml destilovane vode kako bi dobili 1l rastvora za ispiranje). Rastvor za uzorke smo pripremili tako da smo na jedan deo koncentrovanog razređivača dodali četiri dela destilovane vode. Na mikroploču za koju je vezan antigen dodali smo u dva bunara po 100 μ l pozitivnog kontrolnog seruma i u dva bunara takođe po 100 μ l negativnog kontrolnog seruma. U ostale bunare naneli smo po 100 μ l razređenog seruma u razređenju 1:200 (5 μ l seruma sa 1ml razređivača za serume). Mikroploču smo 1 sat inkubirali na sobnoj temperaturi a zatim 4 puta ispirali sa rastvorom za ispiranje. Zatim smo u sve bunare naneli po 100 μ l konjugata i inkubirali 30 minuta na sobnoj temperaturi. Mikroploče smo 6 puta isprali a onda dodali 100 μ l substrata. Nakon 10 minuta inkubacije na sobnoj temperaturi dodali smo u sve bunare po 100 μ l stop rastvora i izmerili vrednosti optičke gustine (engl. optical density; OD) na spektrofometru pri talasnoj dužini od 450nm.

Pošto smo uzorke seruma radili u duplikatu, njihove OD vrednosti izračunali smo kao aritmetičku sredinu OD vrednosti iz oba bunara.

Za sve uzorke izračunali smo »cut off« vrednosti:

Negativna »cut off« = OD negativne kontrole + 0,2

Pozitivna »cut off« = OD negativne kontrole + 0,25

Test je validan kada je:

OD negativne kontrole manji od 0,35

OD pozitivne kontrole veći od 0,7

Uzorci sa OD vrednostima većim od pozitivne kontrole smatraju se pozitivnim na na PCV2 antitela, dok OD vrednosti niže od negativne kontrole smatraju se negativnim na PCV2 antitela. OD vrednosti između negativnog i pozitivnog cut off –a smatraju se sumnjivim.

Formula za izračunavanje S/P vrednosti:

S/P= OD uzorka/ OD pozitivne kontrole

Formula za izračunavanje titra antitela:

Titar = 53 (e 3,2x)

Pri čemu je e prirodni logaritam baze, a x je S/P uzorka.

Prilikom obrade dobijenih rezultata, vrednosti titra antitela specifičnih za PCV2 su obračunate logaritamskim vrednostima log2.

4.5. Određivanje uticaja vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja

Analizirani su sledeći parametri :

- mortalitet
- prosečan dnevni prirast (ADWG- *average daily weight gain*)
- procenat škartova
- konverzija hrana (FCR- *feed conversion rate*)
- težina na klanju

Mortalitet je izračunat odnosom broja uginulih od broja ispitivanih svinja i izražen je u procentima. Škartovima su označene one svinje, koje su imale za 20% manju telesnu masu od prosečne težine svinja na klanju. Svi parametri su analizirani od momenta vakcinacije.

4.6. Statistička obrada podataka

Za prikaz rezultata korišćene su sledeće statističke metode

- aritmetička sredina
- standardna devijacija
- koeficijent varijacije
- interval varijacije

5. REZULTATI

Prilikom obrade dobijenih rezultata, vrednosti titra antitela specifičnih za PCV2 su obračunate logaritamskim vrednostima \log_2 .

5.1. Nivo antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi

Iz rezultata navedenih u tabeli 3. može se konstatovati da je prosečan titar antitela specifičnih za PCV2, u krvnom serumu prasadi na dan vakcinacije kod prasadi starih 15 dana iznosio 9.63, kod prasadi starih 21 dan 9.91, a nešto niži titar 8.47 utvrđen je kod kontrolne (C) grupe.

Tabela 3. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi na dan vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama (15. dana života kod grupe A, 21. dana kod grupe B, i 21. dana kod grupe C).

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|---------------|---------------------|-------------|------|------|------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 14 | 9.63 | 1.5 | 15.5 | 8.14-11.92 |
| B | 14 | 9.91 | 1.07 | 10.7 | 8.7-11.15 |
| C | 14 | 8.47 | 5 | 59 | 0-11.62 |

Iz prikazanih podataka zapaža se da se titar antitela u ispitivanim uzorcima seruma kretao od 0-11,92. Ovi podaci ukazuju na široki opseg varijabilnosti pojedinačnih vrednosti što se jasno vidi iz datih mera varijacije. Samim tim ovi podaci iziskuju i razmatranje pojedinačnih vrednosti, što je prikazano u tabelama 4., 5., i 6.

Raspodela učestalosti pojedinačnih vrednosti pokazuje da 50% prasadi iz ogledne grupe A ima nivo antitela specifičnih za PCV2 od 8 do 9 i da u ovoj oglednoj grupi, kao i u grupi B nije bilo seronegativnih jedinki, za razliku od kontrolne grupe u kojoj su ustanovljena dva seronegativna praseta.

Kao što se vidi iz tabela 4.,5., i 6. maksimalni titrovi od 11-12 kod sve 3 ispitivane grupe ustanovljeni su kod 28,57% prasadi.

Tabela 4. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) na dan vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 8-9 | 7 | 50 |
| 9-10 | 2 | 14,29 |
| 10-11 | 1 | 7.14 |
| 11-12 | 4 | 28.57 |

Tabela 5. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) na dan vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 8-9 | 4 | 28.57 |
| 9-10 | 4 | 28.57 |
| 10-11 | 2 | 14.29 |
| 11-12 | 4 | 28.57 |

Tabela 6. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) na dan vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 2 | 14.29 |
| 8-9 | 2 | 14.29 |
| 9-10 | 6 | 42.86 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 4 | 28.57 |

Na osnovu rezultata navedenih u tabeli 7. može se zapaziti da su prosečne vrednosti titra antitela u krvnom serumu prasadi 7 dana nakon vakcinacije nešto niže kod svih grupa u odnosu na početak oglada. Prosečna vrednost titra kod ogledne grupe A iznosila je 8.59, kod grupe B 9.63, a kod kontrolne grupe 7.33.

Tabela 7. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi 7 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|----------------------|----------------------------|--------------------|-----------|-----------|------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 14 | 8,59 | 1.26 | 14.66 | 7.62-10.51 |
| B | 14 | 9.63 | 0.835 | 8.67 | 8.58-10.3 |
| C | 14 | 7.33 | 3.25 | 44.33 | 0-9.21 |

Kod prasadi vakcinisanih 15. dana života, nedelju dana nakon vakcinacije, može se zapaziti da su vrednosti titra antitela kretala u rasponu od 7.62 do 10.51. Titar antitela specifičnih za PCV2 od 7 do 8 imalo je 10 prasadi (71.42%). Kod ove ogledne gupe nije bilo seronegativnih jedinki (tabela 8.).

Tabela 8. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) 7 dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 10 | 71.42 |
| 8-9 | 2 | 14,29 |
| 10-11 | 2 | 14.29 |
| 11-12 | 0 | 0 |

Prasad vakcinisana 21. dana starosti imala su titar antitela specifičnih za PCV2 u rasponu od 8.58 do 10.3. Najveći broj prasadi (42.86%) imalo je titar od 10-11, a po 4 (28.56%) praseta titar od 8-9 i od 9-10. Kao i kod ogledne grupe A, ni u ovoj grupi nije bilo seronegativnih prasadi (tabela 9.).

Tabela 9. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) 7 dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 8-9 | 4 | 28.57 |
| 9-10 | 4 | 28.57 |
| 10-11 | 6 | 42.86 |
| 11-12 | 0 | 0 |

Kod kontrolne grupe, 7 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama kod 10 (71,42%) prasadi utvrđen je titar antitela specifičnih za PCV2 od 8 do 9, a kod 2 (14,29%) praseta titar od 9-10. Seronegativna su bila dva (14,29%) praseta (tabela 10.).

Tabela 10. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) 7 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 0 | 2 | 14.29 |
| 8-9 | 10 | 71.42 |
| 9-10 | 2 | 14.29 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 0 | 0 |

U tabeli 11. dat je prikaz prosečnog titra antitela specifičnih za PCV2 kod ispitivanih grupa 14 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama. U grupi A, utvrđen je prosečan nivo antitela 8,2, u grupi B 9,76, a u grupi C 6,69. Relativno niske vrednosti za mere varijacije (SD I KV) kod oglednih grupa A i B, daju ovim grupama prasadi odlike jedne homogene grupe.

Tabela 11. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi 14 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|---------------|---------------------|-------------|------|-------|------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 13 | 8,2 | 1.28 | 15.6 | 7.29-10.06 |
| B | 14 | 9.76 | 0.74 | 7.63 | 8.87-10.63 |
| C | 13 | 6.69 | 4.7 | 70.25 | 0-11.53 |

Najveću učestalost (tabela 12.) u ovoj grupi prasadi (69,23%) imale su vrednosti nivoa antitela od 7-8, dok su vrednosti od 10 do 11 i od 11 do 12 konstatovane u krvnom serumu kod po dva praseta. Kao i u prethodnom periodu, kod ove grupe nije utvrđen nivo antiela 0 kod nijednog praseta.

Tabela 12. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) 14 dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 9 | 69.23 |
| 8-9 | 0 | 0 |
| 10-11 | 2 | 15.38 |
| 11-12 | 2 | 15.38 |

Kad posmatramo titrove antitela specifičnih za PCV2 kod svih prasadi iz grupe B, nalazimo sledeće rezultate: dva praseta (14,29%) imalo je titar antitela specifičnih za PCV2 od 8 do 9, a titar od 9 do 10 i od 10 do 11 imalo je po 6 prasadi (42,86%) (tabela 13.)

Tabela 13. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) 14 dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 2 | 14,29 |
| 9-10 | 6 | 42.86 |
| 10-11 | 6 | 42.86 |

Posmatrajući rezultate iz tabele 14. ustanovili smo da su 4 (30,77%) praseta bila seronegativna, odnosno da su imala titar antitela specifičnih za PCV2 0, da su po dva (15,38%) imala titar od 7-8, 8-9, 9-10 i 10-11, a samo jedno (7,7%) prase titar od 11-12. Individualne razlike bile su prilično izražene što se vidi iz visokih mera standardne devijacije (4,7) i koeficijenta varijacije (70.25%).

Tabela 14. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) 14 dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 4 | 30.77 |
| 7-8 | 2 | 15.38 |
| 8-9 | 2 | 15.38 |
| 9-10 | 2 | 15.38 |
| 10-11 | 2 | 15.38 |
| 11-12 | 1 | 7.7 |

Najveća prosečna vrednost titra antitela specifičnih za PCV2, 21. dana nakon vakcinacije zabeležena je kod B grupe prasadi i iznosila je 9.3. Kod A ogledne grupe prasadi utvrđena je prosečna vrednost titra antitela 8.25, dok je kod kontrolne grupe ustanovljena najniža prosečna vrednost 3.97 (tabela 15.).

Tabela 15. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi 21. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|---------------|---------------------|-------------|-----------|-----------|------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 13 | 8,25 | 1.22 | 14.78 | 7.26-9.86 |
| B | 14 | 9.3 | 0.964 | 10.36 | 8.21-11.02 |
| C | 13 | 3.97 | 4.96 | 124,93 | 0-9.59 |

Kod A ogledne grupe prasadi, 21. nakon vakcinacije, najveću učestalost pokazivali su vrednosti nivoa antitela od 7 do 8 (76,92%), dok su titrovi od 9 do 10 obuhvatali 23.08%. Kod ove ogledne grupe nije bilo seronegativnih jedinki (tabela 16.).

Tabela 16. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) 21. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 10 | 76.92 |
| 8-9 | 0 | 0 |
| 9-10 | 3 | 23.08 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Raspodela učestalosti pojedinačnih vrednosti (tabela 17.) pokazuje da 57.14% prasadi ove grupe ima vrednosti tira antitela od 9-10, 28.57% prasadi od 8 do 9, a 14.29% prasadi od 11 do 12. Istovremeno se može zapaziti da nije bilo prasadi koja su imala titar antitela 0.

Tabela 17. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) 21. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 4 | 28.57 |
| 9-10 | 8 | 57.14 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 2 | 14.29 |

U tabeli 18. prikazane su učestalosti pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u kontrolnoj grupi 21. dan nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama. Iako standardna devijacija (4,96) i koeficijent varijacije (124.93%) ukazuju na ovu grupu kao izrazito heterogenu u pogledu titra antitela, najveću učestalost pokazivao je nivo antitela 0 (61.54%), nivoi od 8 do 9 obuhvatali su 15.38% , a nivoi od 9 do 10 23.08% prasadi iz ove grupe.

Tabela 18. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) 21. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 8 | 61.54 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 2 | 15.38 |
| 9-10 | 3 | 23.08 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Dobijeni podaci o prosečnim vrednostima titra antitela specifičnih za PCV2 28. dana nakon vakcinacije prikazani su u tabeli 19. Iz prikazanih rezultata se može zaključiti da su i dalje najviše prosečne vrednosti titra antitela utvrđene kod prasadi vakcinisane 21. dana starosti (B grupa) 8.72, a da je kod prasadi vakcinisane 15. dana (A grupa) titar znatno niži (4.35) nego u prethodnom periodu. U kontrolnoj grupi zabeležene su najniže prosečne vrednosti titra antitela (3.74) nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama.

Tabela 19. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi 28. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|----------------------|----------------------------|--------------------|-----------|-----------|------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 12 | 4.35 | 4.81 | 110 | 0-9.81 |
| B | 14 | 8.72 | 1 | 11.46 | 7.79-10.67 |
| C | 13 | 3.74 | 4.67 | 124,86 | 0-9.1 |

Razmatranjem učestalosti pojedinačnih vrednosti za nivo antitela (tabela 20.) kod A ogledne grupe zapaža se da su po prvi put u ovoj oglednoj grupi, 28. dana nakon vakcinacije utvrđena seronegativna prasadi (33.33%). Takođe 33,33% prasadi imalo je nivo antitela od 7 do 8, a po 16.67% prasadi imalo je nivo antitela od 8 do 9 i od 9 do 10.

Tabela 20. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) 28. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 4 | 33.33 |
| 7-8 | 4 | 33.33 |
| 8-9 | 2 | 16.67 |
| 9-10 | 2 | 16.67 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Ukupno posmatrajući svu prasadi iz ogledne grupe B (tabela 21.) ustanovljene su sledeće vrednosti titra antitela specifičnih za PCV2: nivo titra od 7 do 8 imala su 4 (28.57%) praseta, od 8 do 9 imalo je 6 (42.86%) prasadi, od 9 do 10 i od 10 do 11 po dva praseta (14,29%), a nivo titra 0 nije utvrđen kod nijednog praseta.

Tabela 21. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) 28. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 4 | 28.57 |
| 8-9 | 6 | 42.86 |
| 9-10 | 2 | 14.29 |
| 10-11 | 2 | 14.29 |
| 11-12 | 0 | 0 |

Kod kontrolne grupe 28. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama, čak 8 (61,54%) prasadi bilo je seronegativno, a 4 (30.77%) je imalo vrednost titra antitela od 8 do 9, dok je samo kod jednog praseta (7.69%) utvđen nivo antitela od 9 do 10 (tabela 22.).

Tabela 22. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) 28. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 8 | 61.54 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 4 | 30.77 |
| 9-10 | 1 | 7.69 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Kod ukupno 12 ispitanih uzoraka krvnog seruma 35. dana nakon vakcinacije, kod A ogledene grupe prasadi, utvrđen je prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 od 4.05 i kretao se u rasponu od 0 do 8.31. Kod populacije prasadi iz grupe B ustanovljen je i dalje visok prosečan titar od 8.71, a kod kontrolne grupe nastavljen je kontinuirani pad prosečnog titra antitela i iznosio je 2.42 (tabela 23.).

Tabela 23. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu prasadi 35. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih prasadi | Titar (1:) | | | |
|---------------|---------------------|-------------|-------|--------|------------|
| | | \bar{X} | SD | KV | IV |
| A | 12 | 4.05 | 4.44 | 109.6 | 0-8.31 |
| B | 14 | 8.71 | 1.391 | 15.97 | 7.67-11.52 |
| C | 13 | 2.42 | 4.19 | 173.14 | 0-8.07 |

Najveću učestalost kod A ogledne grupe prasadi imao je nivo antitela 0 u 41.66% slučajeva, nivo antitela od 7 do 8 u 25%, a nivo antitela od 8 do 9 konstantovan je u 33.33% slučajeva (tabela 24.).

Tabela 24. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa A) 35. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 5 | 41.66 |
| 7-8 | 3 | 25 |
| 8-9 | 4 | 33.33 |
| 9-10 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Visoki titrovi antitela specifičnih za PCV2 od 11 do 12 su ustanovljeni kod dva (14,29%) ispitana uzorka, dok je najniži titar od 7 do 8 utvrđen u 4 (28,57%) ispitana uzorka 35. dana nakon vakcinacije kod B eksperimentalne grupe prasadi (tabela 25.). Najveći broj ispitanih uzoraka (42,86%) imalo je titar od 8 do 9.

Tabela 25. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa B) 35. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 4 | 28.57 |
| 8-9 | 6 | 42.86 |
| 9-10 | 2 | 14.29 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 2 | 14.29 |

Iz prikaza učestalosti pojedinačnih vrednosti (tabela 26.) vidi se i dalje visok procenat (61,54%) seronegativnih jedinki u ovoj populaciji prasadi, dok su najniži seropozitivni titrovi od 7 do 8 utvrđeni kod 30,77% slučajeva. Samo kod jednog praseta konstantovan je titar od 8 do 9.

Tabela 26. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu prasadi (grupa C) 35. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 8 | 61.54 |
| 7-8 | 4 | 30.77 |
| 8-9 | 1 | 7.69 |
| 9-10 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Posmatrajući tabelu 27. može se konstatovati da prosečne vrednosti titra antitela kod eksperimentalnih grupa pokazuju značajan porast 60. dana nakon vakcinacije u odnosu na iste populacije u prethodnom periodu. Prasad vakcinisana sa 14 dana starosti (A grupa) imala su prosečan titar od 8.02, a mere standardne devijacije (0.49) i koeficijenta varijacije (6.1) ukazuju na to da se radi o jednoj veoma homogenoj grupi. I dalje najviše prosečne vrednosti titra antitela (9.58) utvrđene su kod prasadi vakcinisane 21. dana starosti (B grupa), dok je kod kontrolne grupe prosečan titar iznosio 0.

Tabela 27. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu tovljenika 60. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih tovljenika | Titar (1:) | | | |
|---------------|------------------------|-------------|-------|-------|------------|
| | | – X | SD | KV | IV |
| A | 12 | 8.02 | 0.49 | 6.1 | 7.53-8.96 |
| B | 14 | 9.58 | 1.745 | 18.21 | 7.61-12.08 |
| C | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Iz tabele 28. se vidi da nije bilo seronegativnih tovljenika u ovom periodu istraživanja kod eksperimentalne A grupe. Od ukupno 12 ispitanih tovljenika po 6 (50%) je imalo titar od 7 do 8, odnosno od 8 do 9.

Tabela 28. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa A) 60. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 6 | 50 |
| 8-9 | 6 | 50 |
| 9-10 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Kod prasadi vakcinisanih 21. dana života, 60. dana nakon vakcinacije, može se zapaziti da su se prosečne vrednosti titra antitela kretale u rasponu od 7.61 do 12.08. Titar antitela specifičnih za PCV2 od 7 do 8 su imala 2 (14,29%) tovljenika, po 4 (28,57%) imala su titar od 8 do 9 i od 9 do 10, a po 2 (14,29%) tovljenika titar od 11 do 12 i od 12 do 13. Kod ove ogledne grupe nije bilo seronegativnih jedinki (tabela 29.).

Tabela 29. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa B) 60. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 2 | 14.29 |
| 8-9 | 4 | 28.57 |
| 9-10 | 4 | 28.57 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 2 | 14.29 |
| 12-13 | 2 | 14.29 |

Rezultati prikazani u tabeli 30. ukazuju na to da kod kontrolne grupe 60. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama nije bilo seropozitivnih jedinki, odnosno da je svih 13 (100%) ispitivanih tovljenika imalo titar 0.

Tabela 30. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa C) 60. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 13 | 100 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 0 | 0 |
| 9-10 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Dobijeni podaci o prosečnim titrovima antitela u krvnom serumu tovljenika 90. dana nakon vakcinacije prikazani su u tabeli 31. Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da su prosečni titrovi antitela kod svih ispitivanih grupa najviši do sada od početka ogleda. U kontrolnoj grupi utvrđeni su veoma visoki titrovi sa prosečnom vrednošću od 12.78, a interval varijacije kretao se od 11.54 do 14.93. Kod populacije prasadi iz grupe A zabeležen je prosečni titar u iznosu od 10.16, a kod grupe B iznosio je 10.46. Mere standardne devijacije i koeficijenta varijacije ukazuju na to da se radi o veoma homogenim grupama.

Tabela 31. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu tovljenika 90. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitivanih tovljenika | Titar (1:) | | | |
|---------------|------------------------|-------------|------|-------|-------------|
| | | – X | SD | KV | IV |
| A | 12 | 10.16 | 0.5 | 4.92 | 9.75-10.73 |
| B | 14 | 10.46 | 1.25 | 11.95 | 9.03-12.58 |
| C | 12 | 12.78 | 1.17 | 9.15 | 11.54-14.93 |

Raspodela učestalosti pojedinačnih vrednosti ukazuje na to da je po 6 (50%) tovljenika iz ogledne grupe A ima nivo antitela specifičnih za PCV2 od 9 do 10 odnosno od 10 do 11 (tabela 32.).

Tabela 32. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa A) 90. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 0 | 0 |
| 9-10 | 6 | 50 |
| 10-11 | 6 | 50 |

Raspodela učestalosti pojedinačnih vrednosti (tabela 33.) pokazuje da 57.14% tovljenika ove grupe ima vrednosti tira antitela od 9-10, 28.57% tovljenika od 11 do 12, a 14.29% od 12 do 13.

Tabela 33. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa B) 90. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 9-10 | 8 | 57.14 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 4 | 28.57 |
| 12-13 | 2 | 14.29 |

Razmatranje učestalosti pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika kod kontrolne grupe 90. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama pokazalo je da je najveći procenta tovljenika (33%) imalo titar antitela od 12 do 13, kod 25% tovljenika titar se kretao od 11 do 12, a 16,16% imalo je titar od 14 do 15, što je ujedno i najviši utvrđeni titar u toku ovih ispitivanja (tabela.34.).

Tabela 34. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa C) 90. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 3 | 25 |
| 12-13 | 4 | 33.33 |
| 13-14 | 3 | 25 |
| 14-15 | 2 | 16.66 |

Kod ukupno 12 ispitanih uzoraka seruma u kontrolnoj grupi prasadi 120. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama utvrđen je prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 od 13.02 i kretao se u rasponu od 11.85-14.73 (tabela 35.). U istom periodu kod A eksperimentalne grupe iznosio je 9.55 i kretao se u raponu od 9 do 9.96, a kod B grupe 9.27 i kretao se od 8.08 do 10.33.

Tabela 35. Prosečan titar antitela specifičnih za PCV2 u krvnom serumu tovljenika 120. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Ogledna grupa | Ispitvanih tovljenika | Titar (1:) | | | |
|---------------|-----------------------|-------------|------|------|-------------|
| | | X | SD | KV | IV |
| A | 12 | 9.55 | 0.49 | 5.13 | 9.-9.96 |
| B | 14 | 9.27 | 0.92 | 9.93 | 8.08-10.33 |
| C | 11 | 13.02 | 1.2 | 9.25 | 11.85-14.73 |

Na osnovu rezultata navedenih u tabeli 36. se vidi da je kod svih 12 (100%) uzoraka seruma u ovoj populaciji svinja konstantovan titar od 9 do 10.

Tabela 36. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa A) 120. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 0 | 0 |
| 9-10 | 12 | 100 |
| 10-11 | 0 | 0 |

Posmatrajući tabelu 37. može se konstatovati da je najveću učestalost (42.86%) u ovoj eksperimentalnoj grupi imaju nivoi od 8 do 9, a da po 28,57% imaju nivoi od 9 do 10 i 10 do 11.

Tabela 37. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa B) 120. dana nakon vakcinacije

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 7-8 | 0 | 0 |
| 8-9 | 6 | 42.86 |
| 9-10 | 4 | 28.57 |
| 10-11 | 4 | 28.57 |

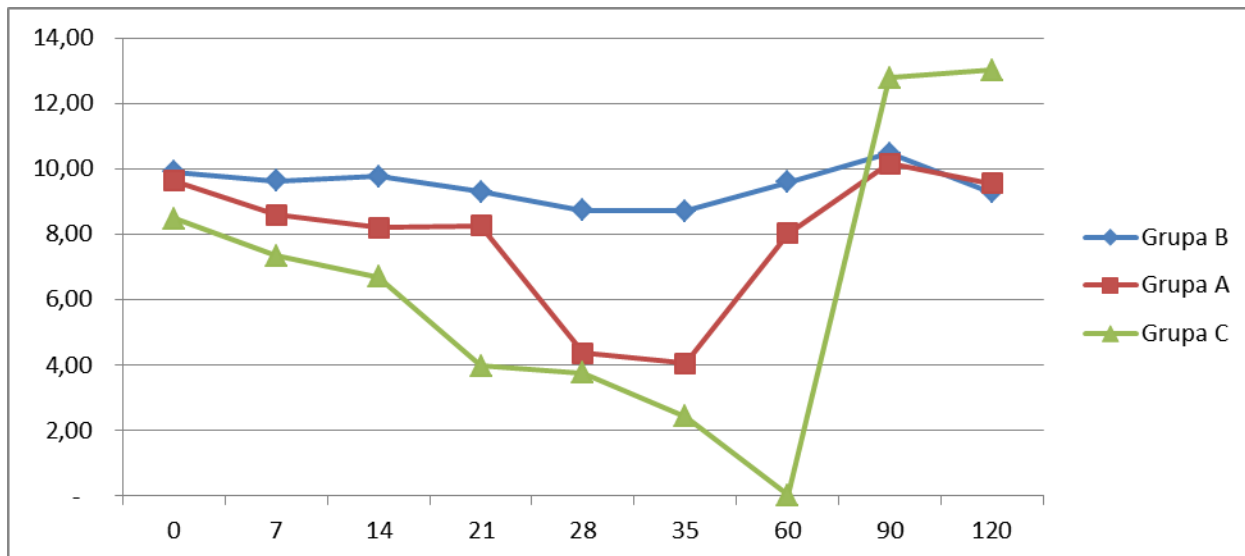
Ukupno posmatrajući sve tovljenike iz kontrolne grupe (tabela 38.) ustanovljene su sledeće vrednosti titra antitela specifičnih za PCV2: nivo titra od 11 do 12 imalo je 5 (41.66%) svinja, od 12 do 13 jedna (8.33%), od 13 do 14 dve (16.66%) i od 14 do 15 četiri svinje (33.33%).

Tabela 38. Učestalost pojedinačnih vrednosti za nivo antitela u krvnom serumu tovljenika (grupa C) 120. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama

| Nivo antitela (1:) | Broj uzoraka | Procenat (%) |
|----------------------------|---------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 10-11 | 0 | 0 |
| 11-12 | 5 | 41.66 |
| 12-13 | 1 | 8.33 |
| 13-14 | 2 | 16.66 |
| 14-15 | 4 | 33.33 |

Posmatrajući ispitivanu populaciju svinja u celini od momenta početka pa do kraja oglada, konstatovano je sledeće: najniže prosečne vrednosti tira antitela kod vakcinisanih grupa utvrđene su 35. dana a najviše 90. dana nakon vakcinacije. U kontrolnoj grupi od momenta početka oglada prosečan titar opada kontinuirano do 60. dana, nakon čega titar antitela speifičnih za PCV2 ima tendenciju rasta.

Grafikon 1. Uporedni prikaz srednjih vrednosti titra specifičnih antitela protiv PCV2 u krvnom serumu prasadi od početka ogleada do 120. dana nakon vakcinacije izvršene u eksperimentalnim grupama



5.2. Uticaj vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja

Tabela 39. Uticaj vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja kod prasadi vakcinisane 15. dana starosti (A grupa)

| Parametar | X | SD | KV | IV |
|------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| ADWG (g/dan) | 746 | 55.63 | 7.45 | 562-788 |
| FCR (kg) | 3 | 0.257 | 8.56 | 2.4-3.04 |
| Težina na klanju (kg) | 101.3 | 10.25 | 10.11 | 73-106 |
| Mortalitet (%) | 7.33 | | | |
| Škartovi (%) | 11.66 | | | |
| Broj ispitanih svinja | 300 | | | |

Iz rezultata navedenih u tabeli 39. može se konstatovati da je prosečan dnevni prirast kod prasadi vakcinisanih 15. dana starosti iznosio 746 g/dan, a prosečna težina na klanju 101, 3kg pri čemu se interval varijacije kretao od 73 do 106 kg. Za 35 (11.66%) svinja u ovoj populaciji utvrđeno je da su škartovi odnosno imale su za 20% manju telesnu masu na klanju od prosečne težine na klanju, a mortalitet je iznosio 7.33%. Mere standardne devijacije i koeficijenta varijacije ukazuju na to da se radi o veomaj homogenoj grupami.

Tabela 40. Uticaj vakcinacije protiv PCV2 na proizvodne osobine svinja kod prasadi vakcinisane 21. dana starosti

| Parametar | – | SD | KV | IV |
|------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| ADWG (g/dan) | 750 | 67.43 | 8.99 | 550-782 |
| FCR | 3.01 | 0.287 | 9.53 | 2.3-3.03 |
| Težina na klanju (kg) | 102 | 11.15 | 10.93 | 70-108 |
| Mortalitet (%) | 6.33 | | | |
| Škartovi (%) | 11.33 | | | |
| Broj ispitanih svinja | 300 | | | |

U tabeli 40. dat je prikaz uticaja vakcinacije protiv PCV2 kod prasadi vakcinisanih 21. dana starosti na proizvodne osobine svinja. Prosečan dnevni prirast (ADWG) u ovoj ogleđnoj grupi iznosio je 750 g/dan, pri čemu se interval varijacije kretao od 550 do 782 g/danu. Utvrđena je prosečna težina na klanju od 102 kg i konverzija hrane (FCR) od 3.01. Od ukupno 300 ispitanih svinja, uginulo je 19 (6.33%), a za 34 (11.33%) svinje utvrđeno je da su škartovi, odnosno imale su za 20% manju telesnu masu na klanju od prosečne težine na klanju.

Tabela 41. Proizvodne osobine svinja u kontrolnoj grupi (C)

| Parametar | – | SD | KV | IV |
|------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | X | | | |
| ADWG (g/dan) | 690 | 72.30 | 10.47 | 519-781 |
| FCR | 3.09 | 0.351 | 11.35 | 2.3-3.2 |
| Težina na klanju (kg) | 97 | 11.15 | 10.93 | 68-107 |
| Mortalitet (%) | 9 | | | |
| Škartovi (%) | 17.33 | | | |
| Broj ispitanih svinja | 300 | | | |

Kao što se može videti iz tabele 41, od ukupno 300 ispitanih svinja za 52 (17.33%) je utvrđeno je da su škartovi u ovoj grupi, a mortalitet je iznosio 9%. Kod ove populacije svinja zabeležena je prosečna težina na klanju od 97 kg, a interval varijacije se kretao u rasponu od 68 do 107 kg. Kod 300 ispitanih svinja utvrđen je prosečan dnevni prirast od 690 g/dan, a konverzija hrane iznosila je 3.09 kg.

Tabela 42. Uporedni prikaz proizvodnih osobina svinja kod svih ispitivanih grupa

| | A GRUPA | B GRUPA | C GRUPA |
|------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| ADWG (g/dan) | 746 | 750 | 690 |
| FCR (kg) | 3 | 3.01 | 3.09 |
| Težina na klanju (kg) | 101.3 | 102 | 97 |
| Mortalitet (%) | 7.33 | 6.33 | 9 |
| Škartovi (%) | 11.66 | 11.33 | 17.33 |
| Broj ispitanih svinja | 300 | 300 | 300 |

Dobijeni podaci o proizvodnim osobinama svinja vakcinisanih 15. i 21. dana starosti, kao i kontrolne grupe prikazani su u tabeli 42. Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da prasid jednom vakcinisana sa Ingelvac CircoFLEX® imaju signifikanto veći prosečni dnevni prirast (+54g/dan kod A grupe i +60g/dan kod B grupe) i niži mortalitet (-1.67% kod A grupe i -2.67% kod B grupe) u odnosu na kontrolnu grupu. U poređenju sa kontrolnom grupom (17.33%), prasid vakcinisana protiv PCV2 imaju znatno niži procenat škartova (A grupa 11.66% i B grupa 11.33%). Prasad vakcinisana 15 dana starosti imala su veću prosečnu težinu za 4,3kg, a prasid vakcinisana 21. dana starosti za 5kg u odnosu na grupu C. FCR je bio nešto niži kod vakcinisanih jedinki nego kod kontrolne grupe.

6. DISKUSIJA

U našim ispitivanjima sva prasadi su pokazala prisustvo antitela specifičnih za PCV2, na sam dan vakcinacije. U krvnom serumu prasadi kontrolne grupe (prasad grupe „C“) koncentracija je iznosila 8,47, u prasadi grupe „B“ 9,91, a u krvnom serumu prasadi grupe „A“ 9,63 (Tabela 3.). Razmatranjem učestalosti pojedinačnih vrednosti zapaža se da je jedino u grupi „C“ konstatovano dvoje (14,29%) prasadi bez prisustva specifičnih antitela (Tabela 4., 5., 6.). Sedam dana nakon vakcinacije u krvnom serumu svih prasadi zapažen je blagi pad specifičnih antitela (Tabela 7.), ali ni kod jednog praseta nije utvrđeno potpuno odsustvo antitela. Ovo se svakako može objasniti sa jedne strane antigenskom stimulacijom primenjenih vakcina, a sa druge imunosupresivnim delovanjem postojećih kolostralnih ili već stvorenih postinfektivnih antitela u krvnim serumima ispitivane prasadi, što je u potpunoj saglasnosti sa rezultatima nekih autora (*Opriessnig i sar., 2007; Krakowka i sar., 2001; Kyriakis i sar., 2002*) iako *Meerts i sar., 2006*, merenjem ukupnog povećanja tri klase imunoglobulina (IgG1, IgG2, IgA) nisu mogli predvideti tok infekcije. Najveći titar antitela konstatovan je u prasadi, 7 dana nakon vakcinacije, u grupi „B“ (vakcisan 21. dana života) i iznosio je 9,63, nasuprot činjenici da je u toj grupi konstatovan i najveći titar pre vakcinacije (Tabela 3.) i iznosio je 9,91. Analizom pojedinačnih vrednosti u ovoj grupi utvrđeno čak 42,86% prasadi sa titrovima od 10-11 (Tabela 9.). Najveći pad imunoglobulina zapažen je u grupi „C“ (1,14). U grupi „A“ on je iznosio 1,04 dok je u grupi „B“ on iznosio svega 0,28. Ovo nam ukazuje na mogućnost da su maternalna antitela (kojih sasvim logično) mnogo više ima u prasadi grupe „A“ i „C“, mnogo podložnija smanjenju nakon aplikacije vakcine od prasadi grupe „B“ koja bi mogla da obiluje većom količinom postinfektivnih antitela. Pomenuti pad specifičnih antitela traje sve do 90. dana nakon vakcinacije nakon čega se zapaža skok na 10,46 u krvnom serumu prasadi grupe „B“. Do 120. dana ponovo dolazi do pada na nivo od 9,27 (Tabela 35.). Pomenute pojave svakako bi trebalo pripisati postinfektivnim nivoima koji nastaju negde između 35. i 60. dana nakon vakcinacije (Tabela 23. i 27.).

Najdrastičnije promene javljaju se u krvnim serumima nevakcinisanih prasadi (prasad grupe „C“) u kojih 60. dana nakon vakcinacije nisu konstatovana specifična antitela (Tabela 27.). U istoj grupi značajan pad antitela zapažen je već 14. dana nakon početka ogleđa (Tabela 11.). Već tada je došlo do pada sa 8,47 na 6,69. Ovo bi mogao da bude rezultat pada kolostralnih imunoglobulina koji su do kraja ispitivanja ostali jedina imunološka zaštita prasadi od PCV2 infekcija. Uzgred rečeno ovo je za vreme ispitivanja bila i najheterogenija grupa. U istoj grupi prosečan titar antitela 90. dana nakon početka ogleđa beleži nagli skok (12.78 log₂). Mogući razlozi za ovaj nagli porast titra antitela na PCV2 u krvnim

serumima tovljenika jesu prisustvo široko rasprostranjene ove infekcije na našim prostorima, kao i postojanja neimune populacije svinja na infekciju uzročnikom PCV2.

Prasad iz ogledne grupe „A“ uglavnom su pratili zakonitost kretanja imunoglobulina koja je utvrđena u prasadi grupe „B“, iako su promene bile daleko manje izražene (Tabela 3., 7., 11., 15., 19., 23., i 27.). Razloge za ovo treba tražiti u činjenici da su 15. dana starosti (kada su vakcinisani prasadi ogledne grupe „A“) još uvek prisutne velike količine kolostralnih imunoglobulina koja podležu zakonitosti promena sličnih promenama u kontrolnoj grupi. Ovim je moguće objasniti i činjenicu da u serumima prasadi ogledne grupe „A“ već 35. dana nakon vakcinacije nije moguće utvrditi ni jednu jedinku sa titrom antitela iznad 9, što nesumnjivo odgovara potpunom katabolizmu kolostralnih antitela i nedostatak još uvek stvaranja sopstvenih imunoglobulina. U tom smislu vakcinacija prasadi 21. dana života imala bi nesumnjivu prednost u odnosu na vakcinaciju 15. dana života, iako je period od 21 dan isuviše dug u kome bi moglo doći do infekcije prasadi sa svim njenim posledicama kako u smislu zdravstvenog stanja tako i u smislu postignutih ekonomskih parametara (ukupan prirast, efikasnost iskoršćavanja hrane i dr.).

Dobijeni rezultati nisu u saglasnosti sa rezultatima *Krakowka i sar., 2001*, kao i rezultatima *Meerts-a i sar., 2005*, koji navode da se konverzija javlja 10 i 28 dana nakon inokulacije. Neki drugi autori (*Bolin i sar., 2001; Rovira i sar., 2002*) navode da je konverzija antitela 21. dana nakon infekcije niža nego kod subklinički inficiranih svinja. Ovo bi se moglo objasniti samo nivoom kolostralnih antitela u momentu inokulacije. Sa druge strane *Forth i sar., 2007.* su dokazali da se anti-PCV2 IgG javljaju 7. i 14. dana nakon inokulacije antigena, da svoj vrhunac dostižu 21. dan nakon inokulacije i da rastu sve do 69. dana nakon inokulacije. Dobijeni rezultati nisu saglasni ni sa našim rezultatima da nizak nivo antitela ima pozitivan efekat, a da je negativan efekat zapažen samo kod visokog nivoa maternalnih antitela (*Opriessnig i sar., 2007*) iako su *Ritzman i sar., (2008)* u studiji na 1519 prasadi dokazali da je vakcina Ingelvac Circoflex bila efikasna bez obzira na nivo maternalnih antitela.

Razmatrajući dobijene rezultate moglo bi se reći da situacija na farmi odgovara prisustvu subkliničkih infekcija. Relativno visok nivo specifičnih antitela je bez sumnje dovoljan da spreči pojavu bolesti u kliničkoj formi sa mogućim posledicama u okviru proizvodnih performansi.

Naši rezultati saglasni su sa rezultatima koje je dobio *Pejasak i sar. (2010)*. Rezultati se odnose na povećanje dnevnog prirasta u vakcinisane prasadi. U našim ispitivanjima u odnosu na kontrolnu (nevakcinisanu) prasadi dnevni prirast je veći za 54g kod ogledne grupe „A“, odnosno 60g kod ogledne

grupe „B“ (tabela 42.). Kada je u pitanju efikasnost iskorišćenja hrane ona je ostala približno ista (oko 3kg) iako je pokazala izvesnu prednost kod vakcinisane prasadi (tabela 42.). U kontrolnoj grupi ona je iznosila 3.09, a u ogleđnim 3.0 i 3.01. To je rezultiralo i većom težinom svinja na kraju ogleđda (97kg u odnosu na 101,3 i 102kg. Razlog za ovaj simboličan rezultat treba tražiti u pozitivnim efektima primenjenih vakcina (tabela 42.).

Dosadašnji rezultati pokazali su za sobom i različiti broj svinja zaostalih u rastu. U kontrolnoj grupi konstatovano je 17,33% takvih svinja. U odnosu na pomenuti nivo u grupi prasadi koja je vakcinisana 15. dana života (11,66%) ovo predstavlja povećanje od 32,78%, a u odnosu na prasid vakcinisanu 21. dana života povećanje za 34,62% (tabela 42.).

Razlike u broju škartova izazvali su i sasvim različite nivoe uginuća (tabela 42.). U kontrolnoj grupi prasadi nivo uginuća je iznosio 9%, u ogleđnoj grupi „A“ 7.33%, a u grupi „B“ 6.33%. Utvrđene razlike bi se mogle dovesti u vezu sa razlikama u serološkom ogovoru, odnosno sa brojem škart prasadi u ispitivanim grupama.

Gledano u celini tokom trajanja ogleđda moguće je zapaziti pozitivne efekte primenjene vakcine. Oni se uglavnom zasnivaju na sprečavanju većih oscilacija u nivou antitela specifičnih za PCV2. Konstatovane razlike najverovatnije su rezultat prisustva maternalnih antitela u krvnom serumu ispitivane prasadi u momentu same vakcinacije. Sprečavanjem većih oscilacija sprečava se i mogućnost da određeni broj prasadi u datim momentima ostane bez specifične imunološke zaštite i na taj način pruže mogućnost nastanka infekcije. Odsustvo klinički vidljivih infekcija i u prasadi kontrolne grupe govori da su u ispitivanom zapatu uglavnom prisutni subklinički oblici bolesti koji permanentno održavaju određeni nivo antitela. Ovo je rezultat činjenice da antitela mogu sprečiti nastanak klinički manifestnih oblika bolesti, ali ne i same infekcije čiji značaj se ogleđda u njihovom uticaju na neke zdravstvene i proizvodne rezultate (dnevni prirast, konverzija, nastanak većeg broja svinja zaostalih u rastu, broj uginulih, itd.). Opšti je utisak da su daleko bolji rezultati dobijeni kod prasadi vakcinisanih 21. dan u odnosu na 15. dan života, sa napomenom da je 15. dana života daleko veći uticaj maternalnih antitela na stvaranje i na razvoj sopstvenog imunološkog odgovora prasadi nakon vakcinacije. I mada neki autori navode kao najefikasniju vakcinaciju u 7. i 8. nedelji starosti, smatramo da u tom slučaju produžavamo mogućnost nastanka prirodne infekcije prasadi.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata ispitivanja izvršenih u okviru ove disertacije moguće je izvesti sledeće zaključke:

1. Sva vakcinisana prasada pokazala su prisustvo specifičnih antitela u krvnom serumu na dan vakcinacije, izuzev dva praseta (14,29%) kontrolne grupe. Sedmog dana nakon vakcinacije u svim grupama zapažen je blagi pad nivoa specifičnih antitela, kao rezultat neutralizacije maternalnih antitela. Najviši titar u tom periodu utvrđen je u prasadi vakcinisane 21. dana života (9.63). Najniži titar konstatovan je u grupi nevakcinisane prasadi (7.33). Isti trend zadržan je i 14. dana nakon vakcinacije, u periodu kada su u našim ispitivanjima postignuti maksimalni titrovi.
2. Daleko uočljivije razlike utvrđene su u okviru dnevnog prirasta. Najveći je konstatovan kod prasadi vakcinisane 21. dana života i iznosio je 750g. U odnosu na prasada vakcinisanu 15. dana života ovo je povećanje za 54g, a u odnosu na nevakcinisanu grupu prasadi čak 60g.
3. Kada je u pitanju efikasnost iskorišćavanja hrane razlike su neznatne. Kretale su se od 3,00 kod ogledne grupe „A“ do 3,09 kod kontrolne grupe.
4. U kontrolnoj grupi bilo je 17,33% prasadi zaostalih u rastu, a u prasadi vakcinisane 21. dana života 11,33%. Samo nešto više ove prasadi bilo je u grupi vakcinisanoj 15. dana života (11,66%).
5. Navedeni rezultati doveli su sa jedne strane do proizvodnje težih za 1,3 i 2kg tovljenika i sa druge do nižeg nivoa mortaliteta za 1,67 i 2.67% u odnosu na nevakcinisanu prasada.

U našim ispitivanjima konstatovani su povoljni efekti u svim fazama ogleada, te stoga primenjena vakcina zaslužuje da bude deo svakog zdravstvenog programa koji se primenjuje u proizvodnji kvalitetnih i zdravih svinja.

8. LITERATURA

1. Allan GM, McNeilly F, Cassidy JP, et al., (1995). Pathogenesis of porcine circovirus; experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Vet Microbiol* 44:49–64.
2. Allan GM, McNeilly F, Kennedy S, et al.,(1998). Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *J Vet Diagn Invest* 10:3–10.
3. Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, Foster JC, Ellis JA, Krakowka SJ, Meehan BM and Adair BM (1999). Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology* 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. Allan GM, Ellis JA (2000b). Porcine circoviruses: A review. *J Vet Diagn Invest* 12:3–14.
6. Allan GM, McNeilly F, McNair I, et al., (2001). Neonatal vaccination for *Mycoplasma hyopneumoniae* and post-weaning multisystemic wasting syndrome: a field trial. *Pig J* 48:34–41.
7. Allan GM, McNeilly F, McMenemy M, McNair I, Krakowka SG, Timmusk S, Walls D, Donnelly M, Minahin D, Ellis J, Wallgren P and Fossum C (2007). Temporal distribution of porcine circovirus 2 genogroups recovered from postweaning multisystemic wasting syndrome affected and nonaffected farms in Ireland and Northern Ireland. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19: 668–673.

8. Armstrong D, Bishop SC (2004). Does genetics or litter effect influence mortality in PMWS. In: Proc. 18th Int. Pig Vet. Soc.
9. 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.
10. Baekbo P, Kristensen CS, Larsen LE (2012). Porcine Circovirus Diseases: A review of PMWS. *Transboundary and Emerging Diseases*, Volume 59, Issue Supplement s1, 60–67.
11. Balasch M, Segale's J, Rosell C, Domingo M, Mankertz A, Urniza A and Plana-Dura'n J (1999). Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology* 121: 139–148.
12. Bassaganya-Riera J, Pogradichniy 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.
13. Beach NM, Smith SM, Ramamoorthy S, Meng XJ, (2011). Chimeric porcine circoviruses (PCV) containing amino acid epitope tags in the C terminus of the capsid gene are infectious and elicit both anti-epitope tag antibodies and antiPCV type 2 neutralizing antibodies in pigs. *J. Virol.* 85 (9), 4591–4595.
14. 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.

15. Boisseson C et al., (2004). Molecular characterization of Porcine circovirus type 2 isolates from post-weaning multisystemic wasting syndrome-affected and non-affected pigs. *J. Gen. Virol.* 85:293–304.
16. 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.
17. Brunborg IM, Jonassen C, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J (2007). Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *J Vet Diagn. Invest* 19, 368-375.
18. Caprioli A, McNeilly F, McNair I, Lagan-Tregaskis P, Ellis J, Krakowka S, McKillen J, Ostanello F, Allan G (2006). PCR detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in blood, tonsillar and faecal swabs from experimentally infected pigs. *Res. Vet. Sci.* 81 (2), 287–292.
19. Chae C (2005). A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *Vet J*, 169 3 pp. 326–336.
20. 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.
21. Chianini F, Majo' N, Segale's J, et al., (2001). Immunohistological study of the immune system cells in paraffinembedded tissues of conventional pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 82:245–255.

22. Cline G, Wilt V, 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 (2008), pp. 737–740.
23. Corre'ge' I, Pirouelle D, Gaudre' D and LeTiran MH (2001). LaMaladie de l'Amaigrissement du Porcelet (MAP): influence de diffe'rents parametres zootechniques sur son incidence dans un e'levage experimental. *Journees de la Recherche Porcine de France* 33: 283–290.
24. Cortey M, Pileri E, Sibila M, Pujols J, Balasch M, Plana J and Segalés J (2011). Genotypic shift of porcine circovirus type 2 from PCV-2a to PCV-2b in Spain from 1985 to 2008. *Vet J.* 187(3): 363- 368.
25. DeLay J, McEwen B, Carman S, et al., (2005). Porcine circovirus type 2-associated disease is increasing. *AHL Newsletter* 9:22.
26. 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.
27. 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.
28. Dulac GC and Afshar A (1989). Porcine circovirus antigens in PK-15 cell line (ATCC CCL-33) and evidence of antibodies to circovirus in Canadian pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 53: 431–433.

29. 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.
30. Edwards S and Sands JJ (1994). Evidence of circovirus infection in British pigs. *Veterinary Record* 134: 680–681.
31. Ellis J, Hassard L, Clark E, et al., (1998). Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 39:44–51.
32. Ellis J, Krakowka S, Lairmore M, Haines D, Bratanich A, Clark E, Allan G, Konoby C, Hassard L, Meehan B, Martin K, Harding J, Kennedy S and McNeilly F (1999). Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic piglets. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11: 3–14.
33. 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.
34. 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
35. boar. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15: 364–368.
36. Ellis J, Clark E, Haines D, West K, Krakowka S, Kennedy S and Allan GM (2004). Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology* 98: 159–163.

37. Fachinger V, Bischoff R, Jedidia SB, Saalmuller A, Elbers K, 2008. The effect of vaccination against porcine circovirus type 2 in pigs suffering from porcine respiratory disease complex. *Vaccine* 26 (11), 1488–1499.
38. Fenaux M, Halbur PG, Gill M, et al., (2000). Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. *J Clin Microbiol*, 38:2494–2503.
39. Fenaux M, Halbur PG, Haqshenas G, et al., (2002). Cloned genomic DNA of type 2 porcine circovirus is infectious when injected directly into the liver and lymph nodes of pigs: characterization of clinical disease, virus distribution, and pathologic lesions. *J Virol* 76:541–551.
40. Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, Meng XJ (2003). Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV2) and nonpathogenic PCV1 in weanling pigs. *J Virol* 77: 11232–11243.
41. 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
42. genomic backbone of the nonpathogenic PCV1 induces protective immunity against PCV2 infection in pigs. *J Virol* 78:6297–6303.
43. 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.

44. Ferreira D, Sansot B and Laval A (2001). Attempt to use serotherapy to control mortality in PMWS. In: Proceedings of the ssDNA Viruses Plants, Birds, Pigs and Primates (ESVV) Meeting, p. 144.
45. Finlaison D, Kirkland P, Luong R, Ross A (2007). Survey of porcine circovirus 2 and postweaning multisystemic wasting syndrome in New South Wales piggeries. *Aust Vet J*, 85:304-310.
46. 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.
47. 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.
48. Fort M, Sibila M, Perez-Martin E, Nofrarias M, Mateu E, Segales J (2009b). One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicits cell-mediated immunity and significantly reduces PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 27 (30), 4031– 4037.
49. Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne MH, Houde A and Elahi SM (2007). The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Canadian Veterinary Journal* 48: 811–819.
50. Gagnon CA, del Castillo JR, Music N, Fontaine G, Harel J and Tremblay D (2008). Development and use of a multiplex real-time quantitative polymerase chain reaction assay for detection and

differentiation of porcine circovirus-2 genotypes 2a and 2b in an epidemiological survey. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20: 545–558.

51. Gagrčin M (2009). Aktualna znanja o epizootologiji, kontroli i preventivi cirkovirusnih bolesti svinja. Sedmi Simpozijum-Zdravstvena zaštita, selekcija i reprodukcija svinja. Srebrno jezero, 21-23 maj, pp 6-10.
52. Gerber PF, Garrocho FM, Lana AM, Lobato ZI (2011). Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *Vet. J.* 188 (2), 240–242.
53. 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.
54. Grau-Roma L, Hjulsgager 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.
55. Grierson SS, King DP, Sandvik T, et al., (2004a). Detection and genetic typing of type 2 porcine circoviruses in archived pig tissues from the UK. *Arch Virol* 149:1171–1183.
56. Grierson SS, King DP, Wellenberg GJ, Banks M (2004b). 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.

57. Green LE, Woodbine KA, Turner MJ (2005). Post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs: risk and associated laboratory test results. *Int Conf on Circoviruses*, p 23-24.
58. Gresham A, Giles N and Weaver J (2000). PMWS and porcine dermatitis nephropathy syndrome in Great Britain. *Veterinary Record* 147: 115.
59. 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.
60. Halami MY, Nieper H, Müller H, Johne R (2008). Detection of a novel circovirus in mute swans (*Cygnus olor*) by using nested broad-spectrum PCR. *Virus Res.*, 132(1-2):208-12.
61. Hamel AL, Lin LL, Nayar GP (1998). Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol*, 72:5262–5267.
62. Harding JCS and Clark EG (1997). Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) *Journal of Swine Health and Production* 5: 201–203.
63. Harms PA, Sorden SD, Halbur PG, et al, (2001). Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Pathol* 38:528–539.
64. 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 (1), 4.

65. Hassing AG, Wachmann H, Bækbo P, Bøtner A, Nielsen J, Vigre H and Feenstra A (2006). Effect of PMWS pig serum and PCV2 specific serum on mortality and weight gain in pmws affected herds. Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, Vol. 1, p.157.
66. Helie P, Drolet R, Germain MC and Bourgault A (1995). Systemic necrotizing vasculitis and glomerulonephritis in grower pigs in southwestern Quebec. Canadian Veterinary Journal 36: 150–154.
67. Hines RK and Lukert D (1995). Porcine circovirus: A serological survey of swine in the United States. Swine Health and Production 3: 71–73.
68. Hirai T, Nunoya T, Ihara T, Kusanagi K and Shibuya K (2001). Dual infection with PCV-2 and porcine epidemic diarrhoea virus in neonatal piglets. Veterinary Record 148: 482–484.
69. 482–484.
70. Hoogland MJ, Opriessnig T, Halbur PG (2006). Effects of adjuvants on porcine circovirus type 2-associated lesions. J Swine Health Prod 14:133–139.
71. Ilyina TV, Koonin EV (1992). Conserved sequence motifs in the initiator proteins for rolling circle DNA replication encoded by diverse replicons from eubacteria, eucaryotes and archaeobacteria. Nucleic Acids Res, 20:3279-3285.
72. Ivetić V, B Savić, Valter D. (2004). Multistemski sindrom kržljanja prasadi posle odlučanja (PMWS)-kao jedan od oblika cirkovirusne infekcije. Veterinarki gkasnik 409-419, Vol 58, br 3-4.

73. Jantafong T, Boonsoongnern A, Poolperm P, Urairong K, Lekcharoensuk C and Lekcharoensuk P (2011). Genetic characterization of porcine circovirus type 2 in piglets from PMWS-affected and -negative farms in Thailand. *Virology Journal*, 8:88.
74. Jaros P, McIntyre LH, Morris RS, Johnstone AC, Garkavenko O, Neumann E (2006). Experimental evidence that an agent other than PCV2 is a necessary cause of PMWS. *Proc IPVS*, Vol 1, 168.
75. Johne R, Fernández-de-Luco D, Höfle U, Müller H (2006). Genome of a novel circovirus of starlings, amplified by multiply primed rolling-circle amplification. *J Gen Virol*. May, 87(Pt 5):1189-95.
76. Johnson CS, Joo HS, Direksin K, Yoon KJ, Choi YK (2002). Experimental in utero inoculation of late-term swine fetuses with porcine circovirus type 2. *J. Vet. Diagn. Invest.* 14 (6), 507–512.
77. Joisel F, Brune A, Schade A, Longo S, Charreyre C (2007) Results of the vaccination against PCV2 diseases with CIRCOVAC® in 233 German sow herds: decrease in mortality. *Proceedings of the 5th Emerging and Re-Emerging Pig Diseases*, Krakow, Poland, 24th-27th June, p.126.
78. Josephson G, Charbonneau G (2001). Case report of reproductive problems in a new startup operation. *Journal of Swine Health and Production* 9, 258–259.
79. Karuppanan AK et al., (2009). Attenuation of porcine circovirus 2 in SPF piglets by abrogation of ORF3 function. *Virology* 383:338–347.
80. Kawashima K, Tsunemitsu H, Horino R, et al., (2003). Effects of dexamethasone on the pathogenesis of porcine circovirus type 2 infection in piglets. *J Comp Pathol* 129:294–302.

81. Kekarainen 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.
82. Kennedy S, Moffett D, McNeilly F, et al., (2000). Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. *J Comp Pathol* 122:9–24.
83. Kim J, Chung HK, Chae C (2003). Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet. J.* 166 (3), 251–256.
84. 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.
85. Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C (2004b). Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can. J. Vet. Res.* 68 (3), 218–221.
86. Kim D, Kim CH, Han K, Seo HW, Oh Y, Park C, Kang I, Chae C (2011). Comparative efficacy of commercial *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus 2 (PCV2) vaccines in pigs experimentally infected with *M. hyopneumoniae* and PCV2. *Vaccine* 29 (17), 3206–3212.
87. 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.

88. 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.
89. Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F and Allan G (2000). Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Veterinary Pathology* 37: 254–263.
90. 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.
91. Kurmann J, Sydler T, Brugnera E, Buergi E, Haessig M, Suter M, Sidler X (2011). Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Clin. Vaccine Immunol.* 18 (10), 1644–1649.
92. 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.
93. Ladekjaer-Mikkelsen AS, Nielsen J, Storgaard T, Botner A, Allan G, McNeilly F (2001). Transplacental infection with PCV-2 associated with reproductive failure in a gilt. *Vet. Rec.* 148 (24), 759–760.
94. Larochelle R, Bielanski A, Muller P and Magar R (2000). PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 4629–4632.
95. 4629–4632.

96. Larochelle R, Magar R, D'Allaire S (2003). Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can. J. Vet. Res.* 67, 114–120.
97. Li W, Wang X, Ma T, Feng Z, Li Y and Jiang P (2010). Genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains isolated between 2001 and 2009: genotype PCV2b predominate in postweaning multisystemic wasting syndrome occurrences in eastern China. *Virus Genes* 40: 244–251.
98. Liu C, Ihara T, Nunoya T, Ueda S (2004). Development of an ELISA based on the baculovirus-expressed capsid protein of porcine circovirus type 2 as antigen. *J Vet Med Sci* 66:237– 242.
99. Liu J, Chen I, Kwang J (2005). Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. *J. Virol.* 79:8262–8274.
100. Lope'z-Soria S, Segale's J, Nofrani'as M, et al., (2004). Genetic influence on the expression of PCV disease. *Vet Rec* 155: 504–504.
101. 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.
102. Llorenç Grau-Romaa, Frailea L, Segalésa J (2011). Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Veterinary Journal* 187 (1) , pp. 23-32.

103. Lyoo K, Joo H, Caldwell B, Kim H, Davies PR, Torrison J (2011). Comparative efficacy of three commercial PCV2 vaccines in conventionally reared pigs. *Vet. J.* 189 (1), 58–62.
104. 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.
105. 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.
106. 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.
107. Mankertz A, Persson F, Mankertz J, Blaess G. & Buhk HJ (1997). Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. *Journal of Virology* 71, 2562±2566.
108. Mankertz A, Domingo M, Folch JM, LeCann P, Jestin A, Segalés J, Chmielewicz B, Planaduran J and Soike D (2000). Characterisation of PCV-2 isolates from Spain, Germany and France. *Virus Research* 66: 65–77.
109. 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.

110. 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.
111. Martin H, Le Potier MF, Maris P (2008). Virucidal efficacy of nine commercial disinfectants against porcine circovirus type 2. *Vet J.* 177:388-393.
112. Mateusen B, Maes DG, Van Soom A, Lefebvre D, Nauwynck HJ (2007). Effect of a porcine circovirus type 2 infection on embryos during early pregnancy. *Theriogenology* 68 (6), 896–901.
113. 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.
114. McKeown NE, Opriessnig T, Thomas P, Guenette DK, Elvinger F, Fenaux M, Halbur PG, Meng XJ (2005). Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12:1347–1351.
115. 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.
116. 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.

117. 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.
118. Meehan BM, McNeilly F, Todd D et al., (1998). Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol* 79:2171–2179.
119. Meehan BM, McNeilly F, McNair I, Walker I, Ellis JA, Krakowka S, Allan GM (2001). Isolation and characterization of porcine circovirus 2 from cases of sow abortion and porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Arch Virol.* 146(4):835-42.
120. Meerts P, Van GS, Cox E, et al., (2005). Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. *Viral Immunol* 18:333– 341.
121. 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.
122. Mikami O, Nakajima H, Kawashima K, Yoshii M, Nakajima Y (2005). Nonsuppurative myocarditis caused by porcine circovirus type 2 in a weak-born piglet. *J.Vet.Med.Sci.*67, 735-738.

123. Nathan M. Beach, Xiang-Jin Meng (2012). Efficacy and future prospects of commercially available and experimental vaccines against porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Research* Volume 164, Issues 1–2, Pages 33–42.
124. Nawagitgul P, Morozov I, Bolin SR, Harms PA, Sorden SD & Paul PS (2000). Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. *Journal of General Virology* 81, 2281-2287.
125. Nawagitgul P, Harms PA, Morozov I et al., (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.
126. 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.
127. Connor B, Grauvreau H, West K, Bogdan J, Ayroud M, Clark EG, Konoby C, Allan G, Ellis JA (2001). Multiple porcine circovirus 2-associated abortion and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Canadian Veterinary Journal* 42, 551–553.
128. O’Dea MA, MJ Kabay, J Carr, GE Wilcox, and RB Richards (2011). Porcine circovirus-associated disease in weaner pigs in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 89, 122–130.
129. 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.

130. Opriessnig T, Fenaux M, Yu S et al., (2004a). 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.
131. Opriessnig T, Thacker EL, Yu S et al., (2004b). Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 41:624–640.
132. Opriessnig T, McKeown NE, Zhou EM et al., (2006a). Genetic and experimental comparison of porcine circovirus type 2 (PCV2) isolates from cases with and without PCV2-associated lesions provides evidence for differences in virulence. *J Gen Virol* 87:2923–2932.
133. 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.
134. Opriessnig T, Thomas P, Meng XJ, McKeown NE and Halbur PG (2006c). Comparison of the efficacy of three different serotherapy regimens and vaccination with a chimeric PCV1-2 vaccine to protect pigs against pcv2 infection and disease. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark, Vol. 1, p.160.*
135. Opriessnig T, Xiang-Jin Meng, Halbur P (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.

136. Opriessnig T, AR Patterson, J Elsener, XJ Meng and PG.Halbur (2008a). Influence of maternal antibodies on efficacy of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination to protect pigs from experimental infection with PCV2. *Clin. Vaccine Immunol.*, 15, pp. 397–401.
137. 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.
138. 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.
139. 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.
140. Opriessnig T, Patterson AR, Meng XJ, Halbur PG (2009b). Porcine circovirus type 2 in muscle and bone marrow is infectious and transmissible to naïve pigs by oral consumption. *Vet. Microbiol.* 133 (1–2), 54–64.
141. Pallare's 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.
142. 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.

143. Patterson AR and T Opriessnig (2010). Epidemiology and horizontal transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Animal Health Research Reviews*, 11, pp 217-234.
144. Pejsak Z, Podgorska K, Truszczynski M, Karbowski P, Stadejek T (2010). Efficacy of different protocols of vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) in a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 33 (6), e1–e5.
145. Pescador CA (2007). Co-infection by porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. *Pesquisa Veterinaria-Brasileira* 27, 425-429.
146. Pogranichnyy RM, Yoon KJ, Harms PA et al., (2000). Characterization of immune response of young pigs to porcine circovirus type 2 infection. *Viral Immunol* 13:143–153.
147. Pogranichnyy RM, Yoon KJ, Harms PA et al., (2002). Case control study on the association of porcine circovirus type 2 and other swine viral pathogens with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Vet Diagn Invest* 14:449–456.
148. Quintana J, Balasch M, Segale's J, Calsamiglia M, Rodriguez Arrijoja GM, Plana-Duran J and Domingo M (2002). Experimental inoculation of porcine circoviruses type 1 (PCV1) and type 2 (PCV2) in rabbits and mice. *Veterinary Research* 33: 229–237.
149. Racine S, Kheyar A, Gagnon CA et al., (2004). Eucaryotic expression of the nucleocapsid protein gene of porcine circovirus type 2 and use of the protein in an indirect

- immunofluorescence assay for serological diagnosis of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:736–741.
150. Ritzmann M, Palzer A, Eddicks M, Elicker S, Heinritzi K (2008). Lack of interference with maternal immunity and reduction of viremia in PCV2 vaccinated pigs. *IPVS*, Durban, South Africa.
151. Rodri'guez-Arrijoja GM, Segale's J, Rosell C et al., (1999). *Aujeszky's* disease virus infection concurrent with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Vet Rec* 144:152–153.
152. 144:152–153.
153. Rodriguez-Arrijoja GM, Segale's J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Duran J, Casal J and Domingo M (2002). Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research* 63: 354–357.
154. Rodri'guez-Arrijoja GM, Segale's J, Rosell C et al., (2003). Retrospective study on porcine circovirus type 2 infection in pigs from 1985 to 1997 in Spain. *J Vet Med B* 50:99–101.
155. Rose N, Larour G, Le Diguerher G, Eveno E, Jolly JP, Blanchard P, Oger A, Le Dimna M, Jestin A and Madec F (2003). Risk factors for porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds. *Preventive Veterinary Medicine* 61: 209–225.
156. Rose N, Abherve-Gueguen A, Le Diguerher G et al., (2004). Effet de la ge'ne'tique pie'train sur l'expression clinique de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP): etude dans 4 e'levages naisseurs-engraisseurs [Effect of the Pietrain breed on clinical post-weaning

- multisystemic wasting syndrome (PMWS): a cohort study on four farrow-to-finish herds]. *Journé'es Recherche en Porcine France* 36:339–344.
157. Rosell C, Segalé's J, Plana-Dura'n J, Balasch M, Rodri'guez-Arrijoja GM, Kennedy S, Allan GM, McNeilly F, Latimer KS and Domingo M (1999). Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Journal of Comparative Pathology* 120: 59–78.
158. Rosell C, Segalé's J, Ramos-Vara JA, Folch JM, Rodri'guez-Arrijoja GM, Duran CO, Balasch M, Plana-Dura'n J and Domingo M (2000). Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Veterinary Record* 146: 40–43.
159. 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.
160. 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.
161. Sanchez R, Nauwynck H, Pensaert M (2001a). Serological survey of PCV-2 antibodies in domestic and wild pig populations in Belgium. In: *Proceedings of the ssDNA viruses of plants, birds, pigs and primates, St. Malo (France)*, p. 122.
162. 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.

163. Sanchez RE, Meerts P, Nauwynck HJ, Pensaert MB (2003). Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life. *Vet. Microbiol.* 95 (1–2), 15–25.
164. 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.
165. 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 (7), 814–821.
166. 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.
167. Segales J, M Domingo (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs - a review. *Vet. Q.* 24. 109-124.
168. Segalés J (2002). Update on postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome diagnostics. *J. Swine Health Prod.* 10, 277–281.
169. Segales J, M Domingo, F Chianini, N Majo, J Dominguez and L Darwich et al., (2004a). Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Vet Microbiol*, 98 2 pp. 151–158.
170. Segalés J, Rosell C and Domingo M (2004b). Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Veterinary Microbiology* 98: 137–149.

171. Segalés J, Allan GM, Domingo M (2005^a). Porcine circovirus diseases. *Anim. Health Res. Rev.* 6 (2), 119–142.
172. 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.
173. 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.
174. Segalés J (2007). Porcine Circovirus Disease (PCVD) – Have we won the war in Europe? *Advances in Pork Production* Volume 18, p 49.
175. Segalés J, Urniza A, Alegre A, Bru T, Crisci E, Nofrarias M, Lopez-Soria S, Balasch M, Sibila M, Xu Z, Chu HJ, Fraile L, Plana-Duran J (2009). A genetically engineered chimeric vaccine against porcine circovirus type 2 (PCV2) improves clinical, pathological and virological outcomes in postweaning multisystemic wasting syndrome affected farms. *Vaccine* 27, 7313–7321.
176. Segalés J et al., (2011). Use of commercial indirect elisa test for porcine circovirus type 2 (PCV2) to infer immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) PCV2 serological titres. 6th International Symposium on Emerging and Re emerging Pig Diseases. Barcelona 12/15 Jun.

177. Segalés J (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 164, 10-19.
178. Shang SB, Jin YL, Jiang Xt, Zhou JY, Zhang X, Xing G, He JL, Yan Y (2009). Fine mapping of antigenic epitopes on capsid proteins of porcine circovirus, and antigenic phenotype of porcine circovirus Type 2. *Mol. Immunol.* 46, 327–334.
179. Shen H, Wang C, Madson DM, Opriessnig T (2010). High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev. Vet. Med.* 97 (3–4), 228–236.
180. 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.
181. Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Blanchard P, Badiella L, Le Dimna M, Jestin A and 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.
182. Sinha A, Shen HG, Schalk S, Beach NM, Huang YW, Meng XJ, Halbur PG, Opriessnig T (2011). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) influences infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) subtypes PCV2a and PCV2b by prolonging PCV2 viremia and shedding. *Vet. Microbiol.* 152 (3–4), 235–246.
183. Smith WJ, Thomson JR and Done S (1993). Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. *Veterinary Record* 132: 47.

184. Sorden SD (2000). Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 8:133–136.
185. 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.
186. Stewart ME, Perry R, Raidal SR (2006). Identification of a novel circovirus in Australian ravens (*Corvus coronoides*) with feather disease. *Avian Pathol.* 35(2):86-92.
187. Tacker B, Wilson C, Francisco and R Schlueter (2008). Circumvent PCV vaccine: performance evaluation and serological studies update Proceedings of the AASV Congress (2008), pp. 153–156.
188. 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.
189. Timmusk S, Wallgren P, Belak K, Berg M, Fossum C (2005). Genetic analysis of 602 PCV2 capsid protein sequences reveals two main groups of Swedish isolates. 603 Proc. ESVV. In. *Con Animal Circoviruses and Associated diseases*, Belfast p82.
190. Tischer I, Rasch R, Tochtermann G (1974). Characterization of papovavirus- and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl Bakteriol [Orig A]* 226:153–167.
191. Tischer I, Miels W, Wolff D, Vagt M and Griem W (1986). Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology* 91: 271–276.

192. 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.
193. Viehmann M, Ladinig A, Lang C, Ritzmann M (2011). Comparison of four different qualitative serological methods for the detection of antibodies against PCV2. 6th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases. Barcelona 12/15 Jun.
194. 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.
195. Villa T (2008). PCV2 and reproductive performance: facts and figures for the disbelievers. Meril Symposium. Intern Pig Vet Soc Conf, Durban, South Africa.
196. Vincent IE, Carrasco CP, Herrmann B et al., (2003). Dendritic cells harbor infectious porcine circovirus type 2 in the absence of apparent cell modulation or replication of the virus. *J Virol* 77:13288–13300.
197. Waddilove AEJ and Marco E (2002). Assessing serotherapeutic control of PMWS in the field. In: Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress, p. 34.
198. Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA et al., (2000). Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 12:400–405.

199. Wang F, Guo X, Ge XN, Wang ZT, Chen YH, Cha ZL, Yang HC (2009). Genetic variation analysis of Chinese strains of porcine circovirus type 2. *Virus Res*, 145:151-156
200. Welch J, Bienek C, Gomperts E, Simmonds P (2006). Resistance of porcine circovirus and chicken anemia virus to virus inactivation procedures used for blood products. *Transfusion* 46:1951–1958.
201. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, Konoby C, Martin K and Ellis JA (1999). Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11: 530–532.
202. www.ictvonline.org
203. www.pig333.com