

ZDRAVSTVENO VARSTVO PRAŠIČEV NA PILOTHIH KMETIJAH

doc. dr. Marina Štukelj, dr.vet.med., asis. dr. Irena Golinar Oven, dr.vet.med.,
viš. zn. sod. dr. Ivan Toplak, dr.vet.med.

Univerza v Ljubljani, Veterinarska fakulteta, Inštitut za zdravstveno varstvo prašičev, Cesta v Mestni log 47, 1000
Ljubljana

POVZETEK

Študija je potekala med leti 2012 in 2014. V študijo smo vključili 16 rej, ki imajo od 34 do 97 plemenskih prašičev. Vse reje imajo vse proizvodne faze na isti lokaciji. V omenjenem obdobju smo odvzeli 1.924 vzorcev krvi plemenskih prašičev in skupno 953 vzorcev krvi od odstavljenecv, tekačev in pitancev. Vzorce krvi smo testirali na prisotnost protiteles proti virusu PRRS z ELISA, proizvajalca IDEXX. 1.079 vzorcev krvi iz 7 rej smo pregledali tudi z metodo verižne reakcije s polimerazo (RT-PCR) na prisotnost nukleinske kisline virusa PRRS. Pozitivnim vzorcem smo določili nukleotidno zaporedje v odseku gena, ki kodira protein nukleokapside (ORF 7) s čimer smo lahko določili sekvence virusov PRRS bodisi genotipa 1 bodisi genotipa 2. Na prisotnost protiteles proti salmoneli smo pregledali 81 serumov plemenskih prašičev in 85 serumov pitancev z ELISA (Salmonella Antibody Test Kit) proizvajalca IDEXX. Iste vzorce smo pregledali tudi na prisotnost protiteles proti APP z metodo ELISA (CHEKIT*APP-ApxIV) proizvajalca IDEXX. Na prisotnost protiteles proti leptospiri smo pregledali 80 vzorcev plemenskih prašičev z mikroaglutinacijskim testom (MAT).

Protitelesa proti virusu PRRS smo dokazali pri 63,7 % plemenskih prašičev, odstotek protiteles pri ostalih kategorijah pa je znašal 37,7. Virus PRRS smo potrdili v 7,9 % preiskanih serumov. Genetska primerjava nukleotidnega zaporedja ugotovljenih sevov PRRS med rejami je pokazala, da smo v rejah ugotovili štiri genetsko zelo različne seve PRRS, uvrščene v podtip 1b, 1e, 1j in 1n. Med podtipi ugotavljamo 86,4 do 92,2 % identičnosti zaporedja nukleotidov v regiji ORF 7. Primerjava več pozitivnih vzorcev virusa PRRS znotraj iste reje pa je pokazala genetsko zelo identične seve, kar potrjuje, da se isti sev virusa vzdržuje znotraj reje in pojavlja pri različnih kategorijah prašičev. Seroprevalenca protiteles proti salmoneli pri plemenskih prašičih je bila 21 %, pri pitancih pa 5,8 %. Prevalenca APP pri plemenskih prašičih je znašala 87,6 %, pri pitancih pa 49,4 %. V treh rejah smo dokazali protitelesa proti leptospiri (serovar hardjo, serovar grippotyphosa).

Petim rejam, prostih PRRS, smo predlagali nadaljevanje izvajanja biovarnostnih ukrepov, 8 rejam kjer smo dokazali protitelesa proti PRRS, izvajanje predpisanih biovarnostnih ukrepov z dvojno zaporo reje (naravna prekužitev) in 3 rejam, ki pa niso v celoti mogle izvajati biovarnostnih ukrepov pa le kontrolo bolezni. Pet rej je ves čas trajanja študije ostalo negativnih

na PRRS, saj so uspešno izvajale biovarnostne ukrepe in preprečile vnos virusa. Ena PRRS pozitivna reja je bolezen izkoreninila, tako, da je na koncu študije 6 rej dobilo status prostih PRRS. Štiri pozitivne reje so bolezen eliminirale. Tri reje živijo s PRRS vendar bolezen kontrolirajo. V 3 rejah pa pričakujemo, da v kratkem ne bo več protiteles proti virusu PRRS pri pitancih in bodo dobile status »eliminacija« bolezni.

Skoraj vsi plemenski prašiči imajo protitelesa proti APP, vendar kliničnih znakov bolezni nismo ugotovili v nobeni reji. Prevalenca protiteles proti salmoneli je zelo nizka. V 3 rejah kjer smo dokazali leptospirozo, so obolele prašiče zdravili.

SUMMARY

Blood samples were collected between 2012 and 2014 on 16 small one-site pig farms with 34 to 97 breeding animals. 1.924 serum samples of breeding animals and 953 serum samples of weaners, growers and fatteners were tested with IDEXX PRRS ELISA. 1.079 samples (from 7 small farms) were screened also with one step reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) using primers amplifying the open reading frame 7 (ORF7), for detection of Type 1 and Type 2 PRRSV strains respectively. 81 serum samples of breeding animals and 85 serum samples of fatteners were tested with Swine Salmonella Antibody Test Kit (IDEXX) and CHEKIT*APP-ApxIV (IDEXX). 80 serum samples of sows were assayed for leptospira antibody using a microscopic agglutination test (MAT). Antibodies against porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) were detected in 63.7% of breeding animals and in 37.7% of other categories. By RT-PCR, PRRSV was detected in 7.9% of serum samples. Comparison of the nucleotide sequences, determined from PRRS positive samples, obtained from four farms showed that four genetically different strains of PRRS, labeled as subtype 1b, 1e, 1j and 1n, were identified. Between the subtypes only 86.4 to 92.2 % nucleotide identity in the region of ORF 7 was observed. The comparison of several positive samples of PRRS virus, detected from the same farm, showed genetically identical strains, which confirms, that the same strain of the virus is maintained within the farm and can be detected in different categories of pigs.

The seroprevalence to salmonella in breeding animals was 21% and in fatteners 5.8%. The prevalence against *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) antibodies was 87.6% in breeding animals and 49.4% in fatteners. Three farms were positive to leptospirosis (serovar hardjo, serovar grippotyphosa). We suggested to five farms, which were confirmed to be free of PRRS, to continue with biosecurity practices and to 11 farms with PRRS we had suggested biosecurity measures and herd closure or control of PRRS. Five farms remained negative during the entire period of study since they strictly followed the required biosecurity measures. One positive farm eradicated PRRS. All together 6 farms were granted the PRRS free status. 4 PRRS positive farms eliminated the PRRS. 3 farms decided to live with PRRS and control the disease. Three farms are waiting for disappearance of antibodies against PRRS to get the status "elimination" of PRRS. Almost all breeding animals had antibodies against APP, though clinical signs were not present.

Seroprevalence of salmonella in Slovenia is low. Three pig farms had leptospirosis. All tree farms treated infected pigs.

1. UVOD

Število prašičev se v Sloveniji niža iz leta v leto (baza VOLOS, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, UVHVVR, podatki iz dne 1.2.2013). Ob vstopu Slovenije v EU so bile ukinjene, s strani države predpisane karantene za nakup prašičev, in rejci so uvažali prašiče brez ustreznega zdravstvenega statusa. Tako smo v Slovenijo vnesli različne povzročitelje bolezni. Poleg tega pa se je znižalo število preiskav v okviru sistematičnega spremljanja bolezni prašičev (monitoring), ki je bil financiran iz strani Ministrstva za kmetijstvo gozdarstvo in prehrano. V okviru Odredba o izvajanju sistematičnega spremljanja stanja bolezni in cepljenj živali v letu 2014 se pri prašičih izvaja monitoring le za ohranjanja statusa države uradno proste bolezni aujeskega in klasične prašičje kuge, dodatno pa se vrši še monitoring na prisotnost virusa afriške prašičje kuge na 1 % poginjenih prašičev (Odredba o izvajanju sistematičnega spremljanja stanja bolezni in cepljenj živali v letu 2014 (Uradni list RS, št. [100/13](#))). Zdravstvenega statusa večine naših rej ne poznamo, vemo pa, da se je z vstopom Slovenije v EU zdravstveno stanje bistveno spremenilo (Valenčak, 2004).

Respiratorne bolezni so pogosto prisotne v prašičereji, povsod po svetu. Prevladujejo pnevmonije, plevropnevmonije in plevritisi, ki so pogosto posledica okužbe z več kot enim povzročiteljem bolezni (Jirawattanapong in sod., 2010).

Respiratorne bolezni v prašičereji predstavljajo ekonomski problem (Thacker, 2001). Poleg direktnih izgub zaradi poginov pri akutnih izbruhih respiratornih bolezni, veliko vlogo igrajo indirektno ekonomske izgube. Zmanjša se obseg proizvodnje prašičev zaradi slabših dnevnih prirastov in konverzije krme, podaljša se pitanje živali, pojavijo se sekundarne okužbe ter povečajo se stroški zaradi intenzivnega zdravljenja živali (Miller in sod., 2001; Rautiainen in sod., 2000). Ekonomske izgube naraščajo, kadar se respiratorne bolezni pojavijo pri mlajših živalih, če so sočasno prisotne še druge bolezni, živali pa so nastanjene v neprimernem okolju (Stärk, 2000). V raziskavi, narejeni na 115.000 prašičih iz več kot 500 različnih čred, zaklanih na

klavnici, so ugotovili, da se zaradi pnevmonije in plevritisov v času pitanja živali, dnevni prirasti zmanjšajo za okoli 30 g na dan na prašiča (Tielen, 1995).

Respiratorne bolezni so najpogostejši vzrok zdravljenja danskih čred prašičev (Andreasen in sod., 2000). Zaradi tega se poveča delež prašičev pri katerih ob klanju dokažemo ostanke antibiotikov (Stärk, 2000). Že od 1970 leta ugotavljajo, da so respiratorne bolezni ne samo posledica delovanja specifičnih mikroorganizmov, ampak kompleksnega vzajemnega vpliva številnih dejavnikov: gostitelja, okoljskih in genetskih dejavnikov ter managementa reje (Sørensen in sod., 2006; Stärk, 2000). Ena od respiratornih bolezni je *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*), ki je povzročitelj plevropnevmonije pri prašičih (Gottschalk in Taylor, 2006). Plevropnevmonija je ena od ekonomsko pomembnih, nalezljivih, pogosto smrtnih bakterijskih bolezni respiratornega trakta pri prašičih in se pojavlja tako v Evropi, ZDA, Kanadi in Vzhodni Aziji (Taylor, 2006). Izgube nastanejo zaradi poginov živali, zmanjšane proizvodnje in zaradi večjih stroškov zdravljenja in vakcinacije (Gottschalk in Taylor, 2006).

A. pleuropneumoniae glede na antigene razvrščamo v 15 serovarov (Nielsen in sod., 1997). Znotraj ene države se lahko pojavljajo različni serovari. Nekateri serovari (npr. serovar 3) so v nekaterih državah nizko virulentni in epidemiološko nepomembni, v drugih pa epidemični. Različni serovari se lahko pojavljajo tudi znotraj ene farme (Gottschalk in Taylor, 2006).

Povzročitelja v rejo najpogosteje vnesejo klicenosci. Bolezen se v reji širi z dotikom in kapljično, lahko tudi posredno z obleko in obutvijo (Gottschalk in Taylor, 2006). Kristensen in sod. (2004) so dokazali, da je prenos po zraku na kratke razdalje (1 m) možen, vendar redek. Premikanje in mešanje živali povečuje tveganje za okužbo.

Diagnoza respiratornih bolezni oziroma ugotavljanje zdravstvenega stanja črede prašičev temelji na kombinaciji kliničnega pregleda, patoanatomskih in laboratorijskih preiskav. Za uspešen program vakcinacije in ostalih ukrepov na farmi je pomembno vedeti, kateri povzročitelji se nahajajo na farmi in pri kateri starosti se živali okužijo. To lahko dosežemo s serološkim testiranjem prašičev po starostnih kategorijah, kar imenujemo serološki profil (Opreissnig in sod., 2007).

Terapija z antibiotiki je pri klinično obolelih živalih učinkovita v začetni fazi bolezni, ko še lahko prepreči pogin. Antibiotike se aplicira parenteralno (subkutano ali intramuskularno) v visokih dozah, saj prizadete živali ne morejo piti niti jesti. Običajno je potrebno aplikacijo ponoviti, odvisno od farmakokinetičnih lastnosti antibiotika. Terapija s hrano in vodo je možna tam, kjer so živali še sposobne normalno piti in jesti. Najboljše rezultate pri izbruhu bolezni daje kombinacija parenteralnega in peroralnega zdravljenja (Gottschalk in Taylor, 2006).

Eliminacija *A. pleuropneumoniae* je težavna. Najprej je potrebno ugotoviti, kakšne so ekonomske izgube in se nato odločiti za nadzor ali eliminacijo bolezni. Pogine lahko zmanjšamo s pravočasno terapijo obolelih živali. Bolezen se zdravi v zgodnji fazi, zdravljene živali pa do zakola izoliramo od ostalih. Kjer to ni mogoče, je potrebno izboljšati dejavnike okolja, kot sta temperatura in ventilacija, ter uporabiti trdne pregrade med boksi. Nepretrgana medikacija ali aplikacija zdravil v presledkih sta praktična, vendar neprimerna za daljši čas. Strateško zdravljenje je usmerjeno predvsem na rizična obdobja, ki jih ugotovimo s pomočjo patoanatomske diagnostike, kliničnih pregledov in črednih seroloških profilov. Tveganje okužbe bomo zmanjšali s sistemom »vse noter-vse ven«, z ločenim zgodnjim odstavljanjem in z večjimi boksi. Živali kupujemo samo iz farm prostih *A. pleuropneumoniae*, da se izognemo vnosu novih serovarov in rezistentnih sevov. V kronično okuženih čredah je potrebno novo kupljene živali pred vnosom v čredo vakcinirati (Gottschalk in Taylor, 2006; Van Overbeke in sod., 2001). Cepiva, ki so specifična za določen serovar, lahko zmanjšajo smrtnost pri okužbi s homolognim serovarom, ne dajo pa zaščite pri okužbi s heterolognimi serovari (Van Overbeke in sod., 2001). »Druga generacija vakcin« zagotavlja visoko zaščito zoper 12 serovarov (1–12) tako eksperimentalno kot tudi v hlevskih pogojih. Vakcinacija prašičev samo z RTX toksini štiti le pred poginom, kombinacija RTX toksinov in zunanjega proteina 42 kDa (OMP) pa varuje tudi pred spremembami na pljučih (Van den Bosch in Frey, 2003). V program ukrepov zoper *A. pleuropneumoniae* sodi tudi dezinfekcija (Gottschalk in Taylor, 2006).

Metoda depopulacije in ponovne naselitve prašičev, ki izvirajo iz certificiranih rej prostih *A. pleuropneumoniae*, je draga. Uspešna je tudi metoda ločenega zgodnjega odstavljanja. Pri čredah z nizkim odstotkom serološko pozitivnih živali (manj kot 30 % seroprevalenca) se lahko uporabi metoda »testiranje in izločitev živali«, ki v bistvu temelji na serološkem testiranju svinj pred

pravitvijo in odstavitev pujskov pri 2 tednih starosti. Pujske se loči od potencialno okužene črede. Seropozitivne svinje se izloča, dokler celotna plemenska čreda ni seronegativna. Pujski, ki so seronegativni do 12. tedna starosti, so primerni za obnovo črede. Ta program lahko traja 6-12 mesecev. Med izvajanjem programa se celotni čredi polaga medicirana krma (Gottschalk in Taylor, 2006). Gjestvang in sod. (2008) so ugotovili, da je bil program delne depopulacije in intramuskularne aplikacije enrofloksacina ter polaganje medicirane krme (tiamulin) uspešen pri eradikaciji serovara 2, manj uspešen pa pri serovaru 6 in 8. V danskih SPF sistemih se uporablja delna depopulacija v povezavi s strateškim zdravljenjem (Szancer, 2008).

Že pol leta po vstopu Slovenije v EU smo prvič dokazali protitelesa proti virusu prašičjega reprodukcijskega in respiratornega sindroma (PRRS). PRRS je virusna bolezen, ki povzroča inapetenco, respiratorne motnje, abortuse in pregonitve, dvig števila mrtvorojenih pujskov s povečano mortaliteto in slabši prirast. PRRS je razširjena skoraj po vsem svetu (Taylor, 2006). Brez PRRS so le Argentina, Avstralija, Kuba, Brazilija, Finska, Nova Zelandija, Norveška, Švica, Švedska in Nova Kaledonija (Zimmerman in sod., 2012). PRRS spada med bolezni, ki povzročajo enormne ekonomske izgube (Meng, 2000). Motnje v reprodukciji imajo za posledico 12 % izgub, 43 % je izgub zaradi povečanega pogina ter 45 % zaradi slabšega izkoristka krme (Zimmerman, 2008). PRRS stane Združene države Amerike (ZDA) letno več kot 560 milijonov \$, medtem ko so bile letne izgube zaradi klasične prašičje kuge 57,4 milijona \$, zaradi Aujezkijeve bolezni pa 21,25 milijona \$ (Neumann in sod., 2005). Po zadnjih podatkih naj bi bile izgube zaradi PRRS v letu 2011 v ZDA večje kot 664 milijonov \$ (Morrison, 2012).

Virus PRRS spada v rod *Arterivirus* in v družino *Arteriviridae* (Benfield in sod., 1992). Genom virusa PRRS je molekula RNA, ki jo sestavlja okrog 15.000 nukleotidov. Virus se razmnožuje v citoplazmi celic, najpogosteje v prašičjih alveolarnih makrofagih in makrofagih drugih tkiv (Torremorell in Christianson, 2002), lahko pa tudi na različnih linijah celic opičjih ledvic, kot so CL 2621, MA 104 in MARC 145. Viruse PRRS razvrščamo v genotip 1 (evropski genotip) in genotip 2 (ameriški genotip), znotraj teh dveh genotipov pa so znani številni različni podtipi (Ropp in sod., 2004). Sev Lelystad (genotip 1) in severno-ameriški sev VR 2332 (genotip 2) kažejo sorodnost samo v 55 do 79 % (Taylor, 2006). V študiji, ki je zajela tipizacijo sevov iz vzhodnoevropskih držav so ugotovili, da znotraj genotipa 1 obstajajo skupine podtipov EU 1, EU

2, EU 3, EU 4 (Forsberg in sod., 2002; Stadejek in sod., 2006). Na določenem geografskem območju lahko najdemo podtipe različnih skupin virusa PRRS (Prieto in sod., 2009; Stadejek in sod., 2008). V Sloveniji sta bila ugotovljena 44,8 % prevalenca protiteles in pojavljanje velikega števila različnih podtipov virusa PRRS (Toplak in sod., 2010; Toplak, 2011; Toplak in sod., 2012).

Na območjih s sodobno rejo prašičev, kjer je promet s prašiči velik, se bolezen pojavlja veliko pogosteje (Leung, 2011). Virus se v rejo vnese največkrat z okuženimi prašiči (56 %), z okuženim semenom (20 %), z različnimi kontaminiranimi predmeti (21 %) in na druge načine (3 %) (Zimmerman in sod., 2006).

Zaradi velikih škod, ki jih povzroča bolezen, je nujno ustrezno ukrepati (Torremorell in Christianson, 2002). Opisani so različni načini ukrepanja: kontrola bolezni, eliminacija bolezni in izkoreninjenje bolezni. Kontrola bolezni pomeni zmanjšanje pogostnosti pojavljanja in širjenja bolezni pa tudi zmanjšanje obolevnosti in smrtnosti zaradi kroženja virusa v čredi, dalje pomeni preprečevanje vertikalnega in horizontalnega prenosa virusa ter spodbujanje razvoja imunosti proti farmskemu sevu virusa in s tem izboljšanje prireje na spremenljivo raven (Dee, 1997; Dee, 1998; Morrison, 2012). Eliminacija bolezni pomeni, da v čredi ni več klinično bolnih živali pa tudi ne virusa, še vedno pa lahko dokažemo protitelesa v plemenski čredi in pri sesnih pujskih (kolostralna protitelesa) (Toma in sod., 1991). Za eliminacijo bolezni obstaja več načinov imunizacije plemenske črede: z naravno prekužitvijo, s serumizacijo ali z vakcinacijo ter dopolnilna metoda delne depopulacije (Torremorell in Christianson, 2002; Taylor, 2006; Zimmerman in sod., 2012). Prva stopnja pri eliminaciji PRRS je stabilizacija plemenske črede. Stabilna plemenska čreda je čreda, kjer nobena plemenska žival ne izloča virusa in imajo vse plemenske živali enotne titre protiteles (Jusa in sod., 1996; Gillespie in Carroll, 2003; Zimmerman, 2008).

Najboljša zaščita pred okužbo z virusom PRRS je homologna, kar pomeni, da prašiče zaščitimo zgolj proti istemu ali pa proti zelo sorodnemu tipu virusa PRRS, ki kroži na farmi. Metodi, ki zagotavljata homologno zaščito, sta naravna prekužitev in serumizacija. Vakcinacija v smislu izkoreninjenja bolezni je namreč učinkovita le, kadar je hlevski podtip virusa soroden z virusom

v vakcini (Pol in sod., 1992; Scotti in sod., 2006; Martelli in sod., 2007; Kimman in sod., 2009). Vakcinacija v primeru heterolognosti pa nudi le delno navzkrižno zaščito, tako, da jo lahko uporabljamo le za blažitev kliničnih znakov in izboljšanja proizvodnih rezultatov. Za ohranjanje takšnega statusa pa je potrebna revakcinacija vsaj na 3 mesece (Murtaugh in Gezow, 2011). Proti genotipu 1 je na tržišču več vakcin, vse pa vsebujejo le sev Lelystad, v vakcini za genotip 2 pa je sev VR 2332 (Zimmerman, 2006).

Eliminacija bolezni ni mogoča brez izvajanja ustreznih biovarnostnih ukrepov (Torremorell in Christianson, 2002). Promet s prašiči moramo nadzorovati tako, da na farmo vhlavimo samo preverjeno negativne prašiče na PRRS in da uporabimo zgolj seme preverjeno negativnih merjascev. Prenos virusa preprečujemo s preoblačenjem delavcev, z nadzorovano dostavo različnih stvari na farmo, z omejitvijo vstopa obiskovalcev na farmo, s čiščenjem in razkuževanjem orodja in pripomočkov ter vozil za prevoz prašičev. Na farmi je potrebno tudi redno izvajati deratizacijo in dezinfekcijo ter onemogočiti dostop pticam (Torremorell in Christianson, 2002; Taylor 2006, Zimmerman in sod., 2006).

Da bi v okuženi farmi eliminirali PRRS, je nujen ukrep tako imenovana dvojna zapora črede, kar pomeni, da najmanj 200 dni ne smemo na farmo voziti novih prašičev niti dodajati lastnih mladice v plemensko čredo (Torremorell in Christianson, 2002).

Salmonelozo prašičev lahko povzroča *Salmonella choleraesuis* in se navadno začne kot sepsa in nadaljuje kot kolitis, ali *Salmonella typhimurium*, za katero je bolj značilen kolitis. Okužbe prašičev s salmonelami so pomembne tudi za ljudi. Salmoneloz je ena najpogostejših bolezni ljudi, ki nastanejo kot posledica zaužitja kontaminirane hrane. Prašič je lahko pomemben prenašalec salmonel, glavni vir okužbe za ljudi pa so meso in mesni proizvodi. Večinoma pride do kontaminacije mesa med njegovo obdelavo v klavnicah. Meso in mesni proizvodi so le redko kontaminirani s *S. choleraesuis*, če pa je le-ta povzročiteljica humane salmoneloze, so klinični znaki zelo hudi (Funk in Wagstrom, 2012). *S. typhimurium* je drugi najpomembnejši povzročitelj salmoneloze ljudi v večini zahodne Evrope (Schmidt, 1995). Število humane salmoneloze se je močno povečalo v letih med 1985 in 1995 (Thorns, 2000), na Danskem je v zgodnjih 1990 *S. infantis* iz nekaj prašičjih čred povzročila epidemijo (Wegener in Baggesen, 1996). Zaradi tega so

začeli uvajati programe za kontrolo te bolezni pri prašičih, z namenom zmanjšati okuženost prašičev s salmonelo (Flensburg, 1999). Prva je bila Danska, ki je svoj program za spremljanje salmoneloze pri prašičih vpeljala v vse stopnje proizvodne verige že leta 1995 (Nielsen in sod., 2001). To je nacionalni program, ki temelji na rutinskem testiranju in klasifikaciji pitovnih čred v razrede ter različnem klanju prašičev glede na stopnjo nevarnosti kontaminacije mesa (Wegener in sod., 2003). Klasifikacija temelji na mesečnem serološkem testiranju vzorcev mesnega soka na prisotnost protiteles proti salmoneli. Pred tem so dokazali povezavo med serološko prevalenco in ugotovitvijo salmonеле v reji. Čredo vsak mesec uvrstijo v enega od 3 razredov glede na rezultate seroloških preiskav v zadnjih 3 mesecih (Ekeroth in sod., 2003). Klavnice zmanjšajo ceno prašičev iz čred 2 in 3 za 2 oz. 4 %. Prašiče iz čred 3 kategorije koljejo samo v določenih klavnicah pod posebnimi higienskimi pogoji, prisotnost kontaminacije mesa pa preverijo bakteriološko. Če ta preseže določeno mejo, morajo biti vsi trupi klavnih prašičev tiste črede obdelani toplotno ali na drug način, ki zmanjša nevarnost za zdravje ljudi. Lastnike čred iz 2 in 3 kategorije vzpodbujajo, da poiščejo nasvet veterinarja, kako zmanjšati pojavljanje salmonеле v čredi (npr. krmljenje, higiena, management) (Wegener in sod., 2003). V Nemčiji so uvedli tako imenovan sistem QS (angl. Quality and Safety). Rejci se vanj vključujejo prostovoljno, potem pa je njihovo sodelovanje obvezujoče. Letno preiščejo po 60 vzorcev mesnega soka in nato uvrstijo čredo v eno od treh kategorij glede na nevarnost vnosa salmonеле v klavnico, kar predstavlja osnovo za uvedbo ukrepov za zmanjšanje salmonеле v mesu prašičev (Kuhnel in Blaha, 2004).

Leta 2003 je NVI izvedel študijo o pojavnosti *Salmonella* spp. pri prašičih. Rezultati so pokazali, da je okužba s salmonelami v Sloveniji sorazmerno nizka. Serološko pozitivnih je bilo 350 prašičev od 1,260 pregledanih. Leta 2004 ni bilo nobenega prijavljenega primera bolezni. Leta 2005 in 2006 se je izvajalo vzorčenje na klavnicah v okviru monitoringa zoonoz in njihovih povzročiteljev. Med leti 2006 in 2007 je potekala v vseh državah članicah EU raziskava o razširjenosti salmonel pri klavnih prašičih. V Sloveniji je bila bakterija ugotovljena v 27 vzorcih bezgavk, vzorci brisov površin trupov so bili negativni. Leta 2008 se je vzorčilo 114 rej plemenskih prašičev in prisotnost salmonel je bila ugotovljena na 12 gospodarstvih. Leta 2010 je bilo pozitivnih na salmonelo 4,7 % vzorcev bezgavk in 5,5 % vzorcev fecesa. V letu 2013 se je izvajal samo pasivni monitoring, t.j. ugotavljanje povzročitelja pri živalih, ki kažejo klinične znake bolezni (Program monitoringa zoonoz in njihovih povzročiteljev za leto 2013).

Leptospiroza je nalezljiva bolezen živali in ljudi. Pri svinjah povzroča zvriganje in prasiatve mrtvih pujskov, pri pujskih pa zlatenico, vnetje možganskih open in pogin. Leptospirozo povzročajo leptospire, ki so dolge tanke spiralno oblikovane bakterije, najdene pri večini sesalcev. Poznamo preko 160 serotipov, ki se lahko med živalmi različnih vrst navzkrižno prenašajo, prav tako pa gre lahko za prenos tudi iz živali na človeka, saj je leptospiroza zoonoza (Šabec in Valenčak, 2000; Elli, 2012).

Vir okužbe je lahko zemlja in voda, ki sta kontaminirana z urinom divjih pa tudi domačih živali, okuženih z bakterijo. Znani prenašalci bolezní so govedo, prašiči, psi in glodavci. Še posebej pomembne so podgane v katerih se bakterija namnoži in tako postanejo do konca življenja klicenosci. Glavni serotipi *Leptospire interrogans*, ki povzročajo bolezní pri prašičih pa so *Leptospira pomona*, *L. tarassovi*, *L. bratislava*, *L. muenchen* in *L. icterohaemorrhagiae*. Diagnostika leptospiroze je težavna, saj so prašiči pogosto okuženi toda brez vidnih kliničnih znakov (Šabec in Valenčak, 2000).

Okužba se pojavlja enzoosko v mnogih rejah prašičev po svetu: severna, vzhodna in srednja Amerika, Avstralija, Nova Zelandija, jugo-vzhodna Azija ter vzhodna in srednja Evropa. Znani prenašalci bolezní so govedo, prašiči, psi in glodavci. Pri glodavcih so še posebej pomembne podgane, kjer se bakterija namnoži in lahko ostanejo do konca življenja klicenosci. Prašiči se z različnimi serovari leptospire okužijo peroralno, spolno in skozi kožne odrgnine. Okužba z *L. pomona* povzroči motnje v reprodukciji, kot so abortusi, mrtvorojeni in slabo vitalni pujski po rojstvu in s tem posledično tudi izgubo proizvodnje in dohodka. Z *Leptospira sp.* se lahko okužijo tudi ljudje, včasih so bolezen pri ljudeh poimenovali "swine herds disease". Klinični znaki pri ljudeh so podobni gripi, lahko pa se pojavi tudi meningitis. *L. icterohaemorrhagiae* pa pri ljudeh povzroča Weilov sindrom, ki se kaže kot ikterična leptospiroza. Dodaten problem s prenosom in okužbo bolezní, predstavljajo države, ki imajo prepovedano uporabo streptomocina (Ellis, 2012).

Pri zdravljenju leptospiroze v krmo prašičev tri tedne dodajamo tetracikline – oksitetraciklin ali klortetraciklin. Nadaljnjo zdravljenje izvajamo čez šest tednov, kjer ponovimo zdravljenje za obdobje štirih tednov v manjšem odmerku kot prvič. V rejah, kjer se periodično pojavlja neplodnost izvajamo tako imenovano strateško zdravljenje, kjer dodajamo zdravila v krmo tik

pred pričakovanim časom bolezni. Svinjam injiciramo streptomycin v času sesanja pujskov. Prav tako pa merjasce tretiramo s streptomycinom vsakih šest tednov (Ellis, 2012).

Kontrola ponavadi temelji na imunizaciji z vakcinacijo in/ali uporabo antibiotikov. Vakcinacija črede se običajno izvaja v državah, kjer se leptospira enzoosko pojavlja. Vakcina, tako kot vse bakterijske vakcine (bakterini), ne zagotavlja popolne imunosti, ampak učinkovito zviša nivo protiteles, tako da prepreči klinične znake. Uporabljene vakcine so inaktivirane in vsebujejo adjuvanse. Kontrola z vakcinacijo je učinkovita. V mnogih državah so dostopne polivalentne vakcine s petimi ali šestimi različnimi serotipi leptospir. Kjer vakcine niso dostopne, je potrebno uporabiti antibiotično terapijo s streptomycinom ali tetraciklini. Vendar pa dosežemo boljši učinek s kombinacijo vakcine in antibiotikov. Ko je leptospira enkrat prisotna v čredi, so pomembne metode: kontrola higiene, konstantno odstranjevanje urina in dober meneagment črede. V čredah z zunanjim izpustom so največkrat vir kontaminacije zunanji boksi. Do težav prihaja, če v njih zastaja urin. Težavo predstavljajo tudi obrabljene betonske površine, ki omogočijo nabiranje urina in vode. Potrebno je zagotoviti dobro drenirane betonske površine, predvsem na mestih defekacije in redno odstranjevanje gnojevke. Prav tako nadzorujemo nivo protiteles pri merjascih in mladica, ter izvajamo deratizacijo za preprečitev kontaminacije (Ellis, 2012). Šteje se, da je leptospiroza prenehala, ko so bili po zadnjem primeru opravljeni vsi ukrepi in je od njih preteklo 21 dni ter negativen rezultat laboratorijskih testiranj (UR RS št. 3/1997). Okužbo preprečujemo z nakupom prašičev iz zdravstveno preverjenih rej in striktno deratizacijo. Serološko pozitivne prašiče pa izločamo iz reje (Šabec in Valenčak, 2000).

V Sloveniji od leta 2000 testiranje na leptospirozo ni več zakonsko obvezno. Od takrat se je zmanjševalo tudi število rej prašičev in s tem vsako leto močno upadalo število vzorcev za preiskavo na leptospirozo. Tako je bilo leta 2002 odvzetih 1.289 vzorcev, od tega pozitivnih na leptospirozo le 10, leta 2013 pa je bilo odvzetih le 66 vzorcev in od tega pozitivna 2 vzorca. Zaradi majhnega števila vzorcev in neobveznega testiranja ne moremo natančno opredeliti kakšno je pojavljanje leptospiroze pri prašičih v Sloveniji. Predvidevamo lahko le, da je bolezen v Sloveniji prisotna in zaradi prenašalcev, kot so ježi, podgane in divji prašiči, bo le ta tudi v prihodnje ostala prisotna. Serovari bakterije *Leptospira interrogans* sensu lato si v Sloveniji

sledijo od najpogostejših k redkejšim v sledečem zaporedju: *L. sejroae*, *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. saxkoebing*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. autumnalis*, *L. camicola* in *L. tarassovi*.

Prašiči po svetu so pogosto invadirani z različnimi vrstami protozojev. Pogosta so obolenja mladih živali s kokcidijami ali z bičkarjem *Giardia* sp. Helminti, posebej nematodi, pa igrajo pomembno vlogo pri reji prašičev, še posebej v ekstenzivnih rejah. Veliko število najrazličnejših glist lahko prašiči gostijo bodisi v pljučih ali prebavilih. Na organih in v mišičnini, lahko ugotavljamo tudi razvojne oblike trakulj, *Cysticercus tenuicollis* – razvojna oblika trakulje *Taenia hydatigena*, *Cysticercus cellulosae*, razvojna oblika človeške trakulje *Taenia solium* ali pa mehurnjak, ehinokok, ki je razvojna oblika trakulje *Echinococcus granulosus* (Taylor, 2007).

Biovarnost pomeni izvajanje različnih ukrepov in postopkov za preprečitev vnosa različnih patogenih mikrobov v čredo in njihovega širjenja znotraj črede. Uvedba biovarnostnih ukrepov terja spremembo in prilagoditev navad ter obnašanja ljudi, ki delajo z živalmi (McCaw, 1995; Canadian Swine Health Board, 2010). Biovarnostni ukrepi so nujni tako pri kontroli bolezni kot tudi za uspešno eliminacijo in izkoreninjenje bolezni (Otake in sod., 2010; Pitkin in sod., 2011). Biovarnost delimo na zunanjo biovarnost, kar pomeni preprečevanje vnosa povzročitelja na farmo in na notranjo biovarnost, kar pomeni preprečevanje širjenja povzročitelja znotraj farme (Pitkin in sod., 2011).

Namen naše študije je bilo ugotoviti zdravstveno stanje v pilotnih rejah in na podlagi ogledov rej in odvzemov vzorcev krvi ter blata izvesti potrebne ukrepe za izboljšanje zdravstvenega stanja reje in posledično izboljšanje storilnosti slovenskih prašičerejskih kmetij.

2. MATERIAL IN METODE

2.1 MATERIAL

3.1.1. Reje

Raziskavo smo opravili v 16 rejah. Vse reje, ki smo bile vključene v študijo, imajo na eni lokaciji združene vse proizvodne faze in vse kategorije prašičev: plemenske svinje, plemenske merjasce, sesne pujske, tekače in pitance.

3.1.2 Vzorci

Tabela 1: Število plemenskih prašičev v posamezni reji, skupno število obiskov v posamezni reji, skupna število odvzetih vzorcev krvi v posamezni reji, skupno število preiskav opravljenih na vzorcih krvi in blata in skupno število odvzetih vzorcev blata v posamezni reji.

Reja	Št. pl. prašičev v rejah	Št. obiskov v rejah	Št. odvzetih vzorcev krvi	Št. vseh preiskav vzorcev krvi	Št. odvzetih vzorcev blata
1	66	3	39	74	10
2	66-93	7	528	694	10
3	50-43	9	563	1.099	10
4	41	2	85	120	10
5	62	5	50	85	10
6	37	3	40	75	10
7	54	6	202	309	10
8	38	6	153	240	10
9	64	1	69	104	10
10	53	3	89	124	10
11	60	5	140	195	10
12	34	3	30	65	10
13	63-61	8	434	733	10
14	59	6	90	127	15
15	56-51	5	299	420	10
16	60	3	80	130	25
SKUPAJ		75	2.813	4.594	170

3.1.3 Priprava inokuluma za serumizacijo

Inokulum za serumizacijo smo pripravili iz individualnih serumov tekačev in pitancev (kri 5 tekačev v starosti 6 tednov, 5 tekačev v starosti 8 tednov, 5 tekačev v starosti 10 tednov in 5 pitancev v starosti 12 tednov), pri katerih smo z metodo RT-PCR ugotovili nukleinsko kislino virusa PRRS. Pozitivne serume s posamezne farme smo združili v en vzorec (pool) in dobro premešali. Enemu delu seruma smo dodali štiri dele gojišča RPMI-1640 (Gibco, Nemčija) in 1 % antibiotika in antimikotika (Invitrogen, Nemčija). Inokulum smo do uporabe hranili v hladilniku pri temperaturi 4 do 8 °C, največ 1 dan.

3.1.4 Vakcina

V reji 11 so uporabljali vakcino Porcillis[®] PRRS proizvajalca Intervet. Vakcina vsebuje oslabljeni virus Lelystad, ki spada v genotip 1 virusa PRRS. Vsaka doza v količini 2 ml pri intramuskularni aplikaciji (i/m) ali pa 0,2 ml pri intradermalni aplikaciji (i/d) vsebuje najmanj 10⁴ TCID₅₀ virusa PRRS. Aktivna komponenta v cepivu je raztopljena v Diluvac Forte.

2.2 METODE

3.2.1. Odvzem vzorcev

Vzorci krvi tekačev, pitancev in plemenskih prašičev smo jemali iz žile vena cava cranialis.

Vzorci blata pa smo odvzeli direktno iz rektuma.

3.2.2 Vzorčenje

Prvo vzorčenje v rejah smo izvedli, da bi ugotovili protitelesa proti virusu PRRS na farmi, proti *Salmonelli sp.* in proti aktinobacilarni plevropnevmoniji (APP). Prav tako smo pregledu vzorcev krvi na protitelesa proti leptospirozi ter na nivo kalcija (Ca) in na nivo anorganskega fosforja (aP). Morebitno prisotnosti parazitov smo preverili na vzorcih blata s parazitološko preiskavo.

Uspešnost izvajanja predpisanih ukrepov smo preverjali ob naših obiskih rej.

Za kontrolo uspešnosti eliminacije ali izkoreninjenja PRRS smo dodatno jemali vzorce pri tekačih in mlajših pitancih od 6 do 14 tednov in pri pitancih v starosti približno 6 mesecev (tik pred klanjem).

3.2.3 Priprava serumov

Krvne vzorce smo centrifugirali 10 minut pri 2.600g, nato smo serume prelili v več manjših epruvet po 1 ml in jih do izvedbe ELISA hranili v hladilniku pri temperaturi med 4 °C do 8 °C.

V primeru, da smo na vzorcih izvedli tudi molekularna testiranja, smo serume prelili s sterilnimi nastavki s filtrom v sterilne vijalke po 1,2 ml in jih do preiskave hranili na -20 °C.

3.2.4 Zapora reje

V rejah, kjer smo dokazali protitelesa proti virusu PRRS in kjer so se odločili za ukrepanje zoper bolezen (naravna prekužitev ali serumizacija) in v tistih, ki so imele možnost zagotoviti ustrezne biovarnostne pogoje, smo uvedli dvojno zaporo, ki temelji na prenehanju vnašanja novih prašičev v rejo in na dodajanju lastnih mladice v plemensko čredo in sicer za obdobje najmanj 6 mesecev. Po preteku 6 mesecev smo se za vsako individualno rejo posebej, na podlagi rezultatov preiskave na protitelesa odločili, ali trajanje zapore reje za določen čas podaljšamo ali pa zaporo opustimo.

3.2.5 Biovarnostni ukrepi

V vseh rejah smo ob začetku študije uvedli zunanje in notranje biovarnostne ukrepe. Rejci so se obvezali, da bodo izvajali sledeče ukrepe: uporaba negativnega semena, ločeni prostori za različne kategorije prašičev, preoblačenje in preobuvanje delavcev pri prehodih med kategorijami prašičev, sistem reje vse noter vse ven dezinfekcijske bariere pred vhodom v prostor, zamenjava dezinfekcijske raztopine na vsakih 24 ur in ločen prostor za bolne živali. Na farmah so redno izvajali deratizacijo in dezinsekcijo. Vsi ti ukrepi so v skladu z biovarnostnim protokolom za PRRS, ki so ga pripravili Pitkin in sod. (2011) in tudi z McREBELL™ (Management Changes to Reduce Exposure to Bacteria to Eliminate Losses) PRRS programom (McCaw, 1995; McCaw, 2000).

Ob naših obiskih rej smo nadzorovali izvajanje naslednjih biovarnostnih ukrepov:

- dvojna zapora,
- uporaba preverjeno negativnega semena na farmah, kjer niso imeli lastnega merjasca,
- kategorije prašičev, ločene po prostorih,
- preoblačenje in preobuvanje delavcev,
- sistem reje vse noter vse ven
- razkuževalne bariere pred vhodom v posamezni prostor in dnevna menjava dezinfekcijske raztopine,
- poseben boks za bolne prašiče v ločenem prostoru,
- deratizacija in dezinsekcija.

3.2.6 Naravna prekužitev

Naravno prekužitev smo izvedli v rejah 2, 7, 8, 9, 10, in 13. V šestih mesecih naj bi vsi plemenski prašiči pridobili specifična protitelesa proti farmskem podtipu virusa PRRS.

3.2.7 Serumizacija

Serumizacijo smo izvedli v reji 3. S posebej pripravljenim inokulumom (glej točko 3.1.3.) smo na isti dan cepili vse prašiče v plemenski čredi. Vsem plemenskemu prašičem v čredi smo na isti dan intramuskularno injicirali 2 ml inokuluma.

3.2.8 Vakcinacija

V reji 11 so do 23.12.2013 vakcinirali plemensko čredo na vsake 3 mesece. Za ta namen so uporabili komercialno vakcino Porcillis[®] PRRS. Vsakemu plemenskemu prašiču so dali isti dan 2 ml pripravka intramuskularno.

3.2.9 Pato-anatomska sekcija

Rejci so poginjene prašiče ne glede na kategorijo poslali na sekcijo na regionalni Nacionalni veterinarski inštitut.

3.2.9 Testi

3.2.9.1 Za dokaz protiteles proti virusu PRRS

Za dokaz protiteles proti virusu PRRS smo uporabili komercialni test ELISA HerdChek PRRS X3 proizvajalca IDEXX. Pozitivni rezultat pomeni, kadar je $S/P \geq 0,4$, negativen pa kadar je $S/P < 0,4$.

3.2.9.2 Za dokaz virusa PRRS

V serumih smo dokazovali prisotnost nukleinske kisline virusa PRRS z metodo reverzne transkripcije in verižne reakcije s polimerazo (RT-PCR). Za izolacijo RNA iz preiskovanih serumov smo uporabili komercialni komplet (QIAamp[®] viral RNA Mini, Qiagen Nemčija) in pomnoževanje produktov RT-PCR ter določanje nukleotidnega zaporedja izvedli, kot je bilo predhodno opisano (Toplak in sod., 2010, Toplak in sod., 2012).

3.2.9.3. Za dokaz protiteles proti *Salmonelli sp.*

Za dokaz protiteles proti *Salmonelli sp.* smo uporabljali testa ELISA Swine Salmonella Antibody Test Kit proizvajalca IDEXX, kjer smo za pozitivne šteli vzorce z vrednostjo $OD \% \geq 20 \%$.

3.2.9.3 Za dokaz protiteles proti APP

Za dokaz protiteles proti APP smo uporabili test ELISA CHEKIT*APP-ApxIV proizvajalca IDEXX, kjer smo za pozitivne šteli vzorce z vrednostjo OD % ≥ 40 %, negativni pa so bili vzorci z OD % < 30 %. Vzorci z OD % od ≥ 30 % do < 40 % smo šteli kot sumljive.

3.2.9.4 Za dokaz protiteles proti leptospiri

Za dokaz protiteles proti leptospiri smo uporabili test mikroaglutinacije (MAT). Gre za serovar specifičen test. Za pozitiven rezultat smo šteli vzorce s titrom $\geq 1:100$.

3.2.9.5 Dokaz parazitov

Za dokaz parazitov v blatu smo uporabljali flotacijsko metodo ugotavljanja lahkih jajčec in sedimentacijsko metodo za ugotavljanje težkih jajčec. S pomočjo koprokulture smo determinirali blastomerizirana jajčeca strongilidnega tipa kot *Oesophagostomum dentatum*.

3.2.9.6 Določanje Ca in anorganskega P v serumu

Analize serumov so se izvajale z avtomatskim biokemijskim analizatorjem RX Daytona proizvajalca RANDOX (Irska, Združeno kraljestvo)

Kalcij (Ca) = Kolorimetrična metoda z arzenazo III reagentom

Anorganski fosfor (aP) = kolorimetrični test brez deproteinizacije z amonijevim molibdatom

Orientacijske normalne vrednosti pri prašičih (Jazbec, 1990):

Ca: 2,24 – 2,98 mmol/L

aP: 1,81 – 3,19 mmol/L

3. REZULTATI

3.1 REZULTATI REJE 1

Tabela 2: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 1.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	39	0	39	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	3	7	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	74			

Ob pričetku študije je bila reja brez protiteles proti virusu PRRS in je takšno stanje obdržala do konca študije zaradi uspešnega izvajanja biovarnostnih ukrepov.

Tabela 3: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 1.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	0	Na sekcijo niso poslali nobenega poginulega prašiča.

4.2 REZULTATI REJE 2

Tabela 4: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 2.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	518	276	242	Naravna prekužitev, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	141	20	121	-
Salmonela	10	3	7	-
APP	10	7	3	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Trichuris</i>)	0	-
SKUPAJ	694			

Ob pričetku študije smo dokazali protitelesa proti virusu PRRS kot tudi virusno nukleinsko kislino. Prisotnost virusa PRRS smo v čredi dokazali v kategoriji 8. tednov starih odstavljenecv in kategoriji mlajših pitancev. Oba ugotovljena virusa PRRS v reji 2 spada v podtip 1b in sta 100 % identična, z referenčnim sevom Lelystad pa imata 93 % identičnost nukleotidnega zaporedja v regiji ORF 7. V reji 2 smo se odločili za naravno prekužitev z dvojno zaporo reje ter izvajanje tudi drugih biovarnostnih ukrepov. 8 mesecev po pričetku izvajanja ukrepov nukleinske kisline virusa PRRS v reji nismo več dokazali. 20 mesecev po pričetku izvajanja ukrepov pa smo bolezen eliminirali.

Tabela 5: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 2.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	24	<ul style="list-style-type: none"> - 3x sesni pujsek: Gastroenteritis - 5 x pl.svinja: Dilatatio cordis acuta - 4 x prašič: Bronchopneumonia - 3 x prašič: Enteropatia pr. Haemorrhagica - 1 x prašič: Pneumonia <p>PA pregled želodcev:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2 x brez sprememb - 1 x začetna hiperkeratoza - 3 x difuzna hiperkeratoza - 1 x difuzna hiperkeratoza, difuzni gastritis (fundusnega dela) - 1 x gastritis, erozivni gastritis fundusnega dela, zmerna difuzna hiperkeratoza

4.3 REZULTATI REJE 3

Tabela 6: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav iz reje 3.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	563	421	109	Serumizacija, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	436	56	380	-
Salmonela	10	2	8	-
APP	10	6	4	-
Leptospira	70	26	44	Zdravljenje.
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>strongilidna jajčeca</i>)	0	-
SKUPAJ	1.099			

Ob pričetku študije smo dokazali protitelesa proti virusu PRRS kot tudi virusno nukleinsko kislino. Prisotnost virusa PRRS smo ob prvem odvzemu vzorcev dokazali v skupinah prašičev starih od 6 do 12 tednov. Pri naslednjem odvzemu je bilo vseh 62 pregledanih plemenskih prašičev negativnih na virus PRRS. Tri mesece kasneje smo ob pregledu 83 prašičev, nukleinsko kislino virusa PRRS ponovno dokazali v skupinah prašičev starih od 6 do 14 tednov, ista skupina prašičev je bila pozitivna na virus PRRS čez tri mesece. Genetska tipizacija 6 pozitivnih vzorcev PRRS iz reje 3 je pokazala, da so virusi ugotovljeni v letu 2012 (štirje pozitivni vzorci) in virusi ugotovljeni v letu 2013

(dva pozitivna vzorca) uvrščeni v podtip 1n, med seboj pa so si identični v 99,6-100 % nukleotidih. Z referenčnim sevom Lelystad imajo 93,0-93,4 identičnost nukleotidov v regijo ORF 7. V reji 3 smo se odločili za serumizacijo ter izvajanje biovarnostnih ukrepov. Petnajst mesecev po pričetku izvajanja ukrepov virusne nukleinske kisline v reji nismo več dokazali. 21 mesecev po pričetku izvajanja ukrepov pa smo bolezen eliminirali.

Tabela 7: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 3.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	Nizek nivo. Potrebna korekcija krme.
Patoanatomska sekcija	16	<ul style="list-style-type: none"> - 1 x svinja: Pleuropneumonia - 4 x (2 x prašič, 1 x svinjka, 1 x odojek): Pneumonia - 5 x (4 x prašič, 1 x odojek): Bronchopneumonia - 2 x (1 x sesni pujsek, 1 x prašič): Gastroenteritis - 1 odojek: Enteropatia pr. Haemorrhagica - 2 x sesni pujsek: Asphyxia neonatorum - 1 x svinjka: Poliartthritis

4.4 REZULTATI REJE 4

Tabela 8: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 4.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	85	61	24	Kontrola, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	2	8	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Ascaris suum</i>)	0	Zdravljenje.
SKUPAJ	120			

Ob pričetku študije smo dokazali protitelesa proti virusu PRRS. Glede na stanje reje smo se odločili za kontrolo boleznih ter izvajanje biovarnostnih ukrepov.

Tabela 9: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 4.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	1	- 1 x prašič: Pneumonia, Pericarditis

4.5 REZULTATI REJE 5

Tabela 10: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 5.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	50	0	50	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	9	1	-
Leptospira	5	2	3	Zdravljenje.
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , strongilidna jajčeca)	0	-
SKUPAJ	85			

Ob pričetku študije je bila reja brez protiteles proti virusu PRRS in je takšno stanje obdržala do konca študije zaradi izvajanja biovarnostnih ukrepov.

Tabela 11: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 5.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	3	- 1 x prašič: Bronhopneumonia - 2 x sesni pujssek: Gastroenteritis

4.6 REZULTATI REJE 6

Tabela 12: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 6.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	40	0	40	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	9	1	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Ascaris suum</i> , <i>Trichuris</i>)	0	Zdravljenje
SKUPAJ	75			

Ob pričetku študije je bila reja brez protiteles proti virusu PRRS in je takšno stanje obdržala do konca študije zaradi izvajanja biovarnostnih ukrepov.

Tabela 13: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 6.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	0	Na sekcijo niso poslali nobenega poginulega prašiča.

4.7 REZULTATI REJE 7

Tabela 14: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 7.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	202	36	166	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	72	0	72	-
Salmonela	10	2	8	-
APP	10	7	3	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , strongilidna jajčeca)	0	Zdravljenje
SKUPAJ	309			

Ob pričetku študije smo v reji 7 dokazali samo protitelesa proti virusu PRRS, nukleinske kisline virusa PRRS pa nismo dokazali. 11 mesece po uvedbi biovarnostnih ukrepov je protitelesa proti virusu PRRS imele le še 6 plemenskih prašičev, medtem, ko so ostali plemenski prašiči in pitanci bili brez protiteles. Bolezen smo v reji 7 eliminirali.

Tabela 15: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 7.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	6	<ul style="list-style-type: none"> - 3 x prašič: Pneumonia - 1 x prašič: Pericarditis - 1 x svinja: Mastitis - 1 x svinja: Dilatatio cordis acuta

4.8 REZULTATI REJE 8

Tabela 16: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 8.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	153	95	58	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	52	0	52	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	6	4	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	240			

Ob pričetku študije smo v reji 8 dokazali samo protitelesa proti virusu PRRS, nukleinske kisline virusa PRRS pa nismo dokazali. Rejec je samo delno izvajal predpisane biovarnostne ukrepe, zato se stanje glede prisotnosti protiteles proti PRRS ni spremenilo.

Tabela 17: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 8.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	8	<ul style="list-style-type: none"> - 2 x sesni pujssek: Pneumonia - 2 x sesni pujssek in odojek: Gastroenteritis - 1 x sesni pujssek: Colitis - 1 x odojek: Enteritis - 2 x svinja: Dilatatio cordis acuta

4.9 REZULTATI REJE 9

Tabela 18: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 9.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	69	69	0	Naravna prekužitev, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	1	9	-
APP	10	9	1	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	104			

Ob pričetku študije smo v reji 9 dokazali protitelesa proti virusu PRRS. Rejcu smo predlagali dvojno zaporo reje in izvajanje tudi drugih biovarnostnih ukrepov. Kakšno je stanje v reji ob zaključku naše študije ne vemo, ker rejec ni želel več sodelovati.

Tabela 19: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 9.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	1	- 1 x prašič: Pneumonia

4.10 REZULTATI REJE 10

Tabela 20: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 10.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	89	89	0	Kontrola, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	1	9	-
APP	10	6	4	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	124			

Ob pričetku študije smo v reji 10 dokazali protitelesa proti virusu PRRS. Rejcu smo predlagali dvojno zaporo reje in izvajanje tudi drugih biovarnostnih ukrepov. Rejec ni

izvajal vseh predpisanih biovarnostnih ukrepov in zato je stanje glede PRRS ostalo nespremenjeno.

Tabela 21: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 10.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	Prenizke vrednosti. Potrebna korekcija krme.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	1	- 1 x prašič: Volvulus mesenterialis intestini, Collapsus

4.11 REZULTATI REJE 11

Tabela 22: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 11.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	140	106	39	Vakcinacija, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	20	3	77	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	6	4	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	195			

Ob pričetku študije so v reji izvajali vakcinacijo na vsake tri mesece proti PRRS in dokazali smo tako prisotnost protiteles proti virusu PRRS kot tudi virusno nukleinsko kislino pri 3 od 20 pregledanih prašičev. Na virus PRRS pozitivne prašiče smo ugotovili v starostni skupini 8 - 10 tednov starih odstavljenecv. Genetska tipizacija treh pozitivnih vzorcev iz reje 3 je pokazala, da ugotovljeni virusi v letu 2012 spadajo v podtip 1j, med seboj pa so si podobni od 99,6-100 nukleotidih, z referenčnim sevom Lelystad pa imajo 93,4-93,8 identičnih nukleotidov v sekvencirani regiji ORF 7. Predlagali smo jim izvajanje biovarnostnih ukrepov. 23.12.2013 so v reji prenehali z vakcinacijo in takrat smo jim predlagali naravno prekužitev in izvajanje biovarnostnih ukrepov. Štiri mesece po prenehanju vakcinacije v reji nismo več dokazali virusne nukleinske kisline, prisotna pa so bila še protitelesa pri vseh kategorijah prašičev. Izvajali so vse predpisane biovarnostne ukrepe.

Tabela 23: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 11.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	5	<ul style="list-style-type: none"> - 1 x prašič: Pyelonephritis, Cystitis - 2 x prašič: Bronhopneumonia - 1 x prašič (35kg): PHE-Enteritis heamorhagica proliferativa

4.12 REZULTATI REJE 12

Tabela 24: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 12.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	30	0	30	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	5	5	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Ascaris suum</i>)	0	Zdravljenje.
SKUPAJ	65			

Ob pričetku študije je bila reja brez protiteles proti virusu PRRS in je takšno stanje obdržala do konca študije zaradi izvajanja biovarnostnih ukrepov.

Tabela 25: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 12.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	0	Na sekcijo niso poslali nobenega poginulega prašiča.

4.13 REZULTATI REJE 13

Tabela 26: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 13.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	434	291	148	Naravna prekužitev, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	247	5	242	-
Salmonela	16	4	12	-
APP	16	13	3	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	15	10 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Ascaris suum</i> , <i>Oesophagostomum</i>)	0	Zdravljenje.
SKUPAJ	733			

Ob pričetku študije smo v reji 13 dokazali tako prisotnost protiteles proti virusu PRRS kot tudi nukleinsko kislino virusa PRRS. Virus smo dokazali pri odstavljenih, starih 6 - 8 tednov. Ugotovljen virus spada v podtip 1e, z referenčnim sevom Lelystad pa ima 88 % identičnosti zaporedja nukleotidov v sekvencirani regiji ORF 7. Rejcu smo predlagali naravno prekužitev in izvajanje vseh predpisanih biovarnostnih ukrepov. Štiri mesece po uvedbi ukrepov v reji nismo več dokazali virusne nukleinske kisline, protitelesa pa so bila prisotna še pri vseh kategorijah prašičev. Pri vsakem naslednjem odvzemu se je nižalo število serološko pozitivnih prašičev. 22 mesecev po uvedbi ukrepov pa nismo več dokazali protiteles pri odstavljenih, tekačih in pitancih. Pri zadnjem odvzemu, to je 32 mesecev po uvedbi ukrepov smo dokazali samo še 18 serološko pozitivnih plemenskih prašičev, medtem, ko so bile vse ostale kategorije prašičev še vedno brez protiteles. Rejec farme 13 se je držal vseh predpisanih biovarnostnih ukrepov in tako smo bolezen eliminirali.

Tabela 27: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 13.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	0	Na sekcijo niso poslali nobenega poginulega prašiča.

4.14 REZULTATI REJE 14

Tabela 28: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 14.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	90	0	90	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	0	10	-
APP	10	9	1	-
Leptospira	7	2	5	Zdravljenje.
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	127			

Reja 14 je bila ob pričetku študije negativna tako na prisotnost protiteles proti virusu PRRS kot tudi prisotnost virusne nukleinske kisline. Reja je obdržala negativni status glede PRRS, saj je izvajala predpisane biovarnostne ukrepe.

Tabela 29: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 14.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	0	Na sekcijo niso poslali nobenega poginulega prašiča.

4.15 REZULTATI REJE 15

Tabela 30: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 15.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	299	76	232	Biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	86	0	86	-
Salmonela	10	3	7	-
APP	10	5	5	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	10	10 (<i>Balantidium coli</i>)	0	-
SKUPAJ	420			

V reji 15 smo ob pričetku študije dokazali samo protitelesa proti virusu PRRS. Nukleinske kisline virusa PRRS nismo dokazali. Rejcu smo predlagali izvajanje biovarnostnih ukrepov. Pri zadnjem vzorčenju, to je 27 mesecev po začetku študije v reji

nismo dokazali več protiteles proti virusu PRRS pri nobeni kategoriji prašičev. Reja je dobila status proste PRRS.

Tabela 31: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 15.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	1	- 1 x prašič: Pyelonephritis purulenta, Sepsis

4.16 REZULTATI REJE 16

Tabela 32: Rezultati seroloških, molekularnih in parazitoloških preiskav vzorcev iz reje 16.

Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Rezultati		Ukrep
		Št. pozitivnih	Št. negativnih	
PRRS (ELISA)	80	75	5	Kontrola bolezni, biovarnostni ukrepi.
PRRS (RT-PCR)	0	0	0	-
Salmonela	10	6	4	-
APP	10	10	0	-
Leptospira	5	0	5	-
Paraziti	25	25 (<i>Balantidium coli</i> , <i>Trichuris suis</i> , <i>Ascaris suum</i> , <i>Oesophagostomum sp.</i>)	0	Zdravljenje.
SKUPAJ	130			

V reji 16 smo ob pričetku študije dokazali protitelesa proti virusu PRRS. Glede na to, da rejec ni mogel zagotoviti, da bi bile kategorije ločene po prostorih in sistem reje "vse noter vse ven", smo rejcu predlagali kontrolo bolezni in izvajanje biovarnostnih ukrepov.

Tabela 33: Rezultati preiskav nivoja Ca in P ter patoanatomske sekcije iz reje 16.

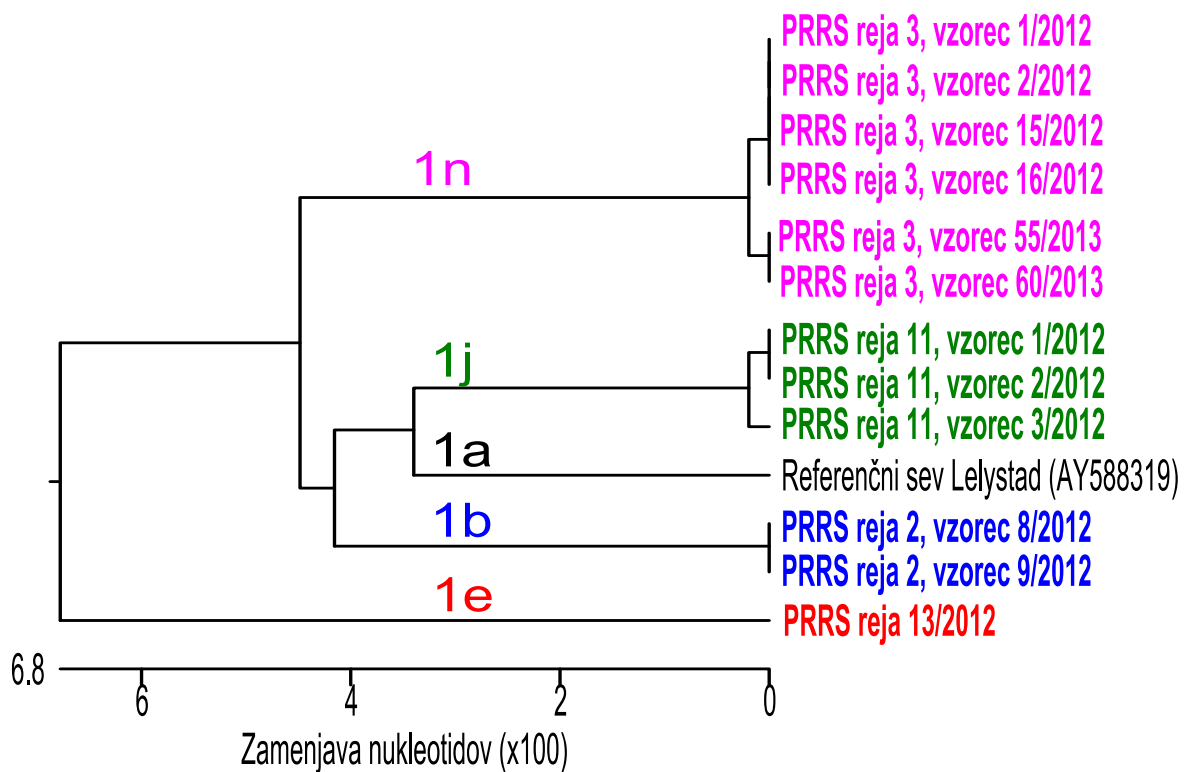
Preiskava	Št. pregledanih vzorcev	Ugotovitve
Ca	3	V mejah referenčnih vrednosti.
aP	3	V mejah referenčnih vrednosti.
Patoanatomska sekcija	30	<ul style="list-style-type: none"> - 2 x sesni pujsek, odojek: Pleuropneumonia - 5 x (4 x prašič, 1 x odojek): Pneumonia - 9 x prašič: Bronchopneumonia - 3 x sesni pujsek: Asphyxia neonatorum - 7 x (6 x prašič, 1 x pl.svinja): Enteropatia pr. Haemorrhagica - 1 x pl. svinja: Parasitosis - 1 x odojek: Gastroenteritis - 2 x pl. svinja: Dilatatio cordis acuta

4.17 PRIMERJAVA NUKLEOTIDNIH ZAPOREDIJ ŠTIRIH POZITIVNIH REJ

V štirih čredah smo dokazali prisotnost virusa PRRS in uspešno izvedli tipizacijo sevov virusa PRRS, ki je bil prisoten v reji. Primerjava sevov PRRS med rejami je pokazala 4 genetsko zelo različne seve virusov PRRS, uvrščene v podtip 1b, 1e, 1j in 1n. Med podtipi ugotavljamo 86,4 do 92,2 % identičnosti zaporedja nukleotidov v regiji ORF 7 (tabela 34). Primerjava več pozitivnih vzorcev virusa PRRS znotraj iste reje pa je pokazala genetsko skoraj 100 % identične seve (Slika 1), kar potrjuje, da se isti sev virusa pojavlja pri različnih kategorijah znotraj reje.

Tabela 34: Prikaz razlik v nukleotidnem zaporedju (v %) med primerjanimi zaporedji virusov iz 4 rej in referenčnima virusoma Lelystad.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
1	■	88.8	88.8	88.8	88.8	88.4	88.4	88.4	88.4	88.0	86.4	86.4	88.0	1	Reja 13/2012
2	12.5	■	100.0	100.0	100.0	99.6	99.6	89.9	89.9	89.5	91.9	91.9	93.0	2	Reja 3, vzorec 1/2012
3	12.5	0.0	■	100.0	100.0	99.6	99.6	89.9	89.9	89.5	91.9	91.9	93.0	3	Reja 3, vzorec 2/2012
4	12.5	0.0	0.0	■	100.0	99.6	99.6	89.9	89.9	89.5	91.9	91.9	93.0	4	Reja 3, vzorec 15/2012
5	12.5	0.0	0.0	0.0	■	99.6	99.6	89.9	89.9	89.5	91.9	91.9	93.0	5	Reja 3, vzorec 16/2012
6	13.0	0.4	0.4	0.4	0.4	■	100.0	90.3	90.3	89.9	92.2	92.2	93.4	6	Reja 3, vzorec 55/2013
7	13.0	0.4	0.4	0.4	0.4	0.0	■	90.3	90.3	89.9	92.2	92.2	93.4	7	Reja 3, vzorec 60/2013
8	13.0	11.2	11.2	11.2	11.2	10.7	10.7	■	100.0	99.6	91.9	91.9	93.4	8	Reja 11, vzorec 1/2012
9	13.0	11.2	11.2	11.2	11.2	10.7	10.7	0.0	■	99.6	91.9	91.9	93.4	9	Reja 11, vzorec 2/2012
10	13.5	11.6	11.6	11.6	11.6	11.2	11.2	0.4	0.4	■	91.5	91.5	93.8	10	Reja 11, vzorec 3/2012
11	15.6	8.8	8.8	8.8	8.8	8.4	8.4	8.9	8.9	9.3	■	100.0	93.0	11	Reja 2, vzorec 8/2012
12	15.6	8.8	8.8	8.8	8.8	8.4	8.4	8.9	8.9	9.3	0.0	■	93.0	12	Reja 2, vzorec 9/2012
13	13.6	7.5	7.5	7.5	7.5	7.0	7.0	7.0	7.0	6.6	7.5	7.5	■	13	Referenčni sev Lelystad
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		



Slika 1. Primerjava nukleotidnega zaporedja virusov PRRS iz podtipov 1b, 1e, 1j in 1n, ugotovljenih v štirih različnih rejah skupaj z nukleotidnim zaporedjem referenčnega seva Lelystad. Primerjava nukleotidnih zaporedij je izvedena v območju ORF7 od 14.673 do 14.927 glede na virus PRRS Lelystad. Prikaz nukleotidnih zaporedij je pripravljen s programom MegAlign™ (Lasergen, DNASTAR, ZDA).

4. RAZPRAVA

Okužbe z virusom PRRS pomembno vplivajo na ekonomiko prašičereje po vsem svetu (Neumann in sod., 2005). Ocenjene letne izgube zaradi okužbe z virusi PRRS so v Sloveniji v letu 2010 znašale 2.045.107 EUR. Izračun temelji na formuli, ki jo je izdelal Bob Morrison (Morrison, 2011) in v kateri smo upoštevali, da je v Sloveniji 30.000 plemenskih svinj, da je prevalenca PRRS 48 % ter da je cena krme 0,25 EUR/kg. Izračunali smo tudi, da znašajo letne

izgube na okuženi farmi s 50 plemenskimi prašiči 20.363 EUR. Od tega je 55,30 EUR izgub pri vsaki breji svinji, 4,60 EUR je izgub na odstavljenca ter 7 EUR izgub na prašiča v obdobju predpitanja in pitanja. Pri omenjenih izračunih gre zgolj za oceno škode, ki pa ne temelji na dejanskih meritvah zabeleženih škod v okuženih rejah ali dejanskih razlikah med rejami, ki so v akutni ali endemični fazi bolezni (Štukelj, 2012).

Po okužbi se rejci srečujejo z izgubami, zato začnejo iskati pomoč zoper PRRS, saj se bolezen brez ukrepanja ne ozdravi sama od sebe. Možna ukrepa v okuženi reji sta kontrola ali pa eliminacija in kasnejše izkoreninjenje bolezni. Burns (2006) je kot ekonomsko najboljšo rešitev predlagal izkoreninjenje bolezni.

Protitelesa proti virusu PRRS smo dokazali pri 63,7 % plemenskih prašičev, odstotek protiteles pri ostalih kategorijah pa je znašal 37,7. Virus PRRS smo potrdili v 7,9 % serumov. V štirih rejah smo dokazali prisotnost virusa PRRS in genetsko tipizirali pozitivne vzorce. Podobno, kot v predhodnih študijah (Toplak in sod., 2010, Toplak in sod., 2012) smo v rejah ugotovili genetsko zelo različne viruse PRRS, ki spadajo v podtip 1b, 1e, 1j in 1n. Ugotovljeni virusi so si s sevom Lelystad identični v 88-93 %, torej gre za genetsko različne seve, kot so prisotni v vakcinah. Zaradi tega, pozitivnim rejam nismo svetovali vakcinacije prašičev ampak uvedbo drugih ukrepov, da bi preprečili kroženje virusa znotraj reje. Rejam prostih PRRS smo predlagali nadaljevanje izvajanja biovarnostnih ukrepov, 8 rejam kjer smo dokazali protitelesa proti PRRS, izvajanje predpisanih biovarnostnih ukrepov z dvojno zaporo reje (naravna prekužitev) in 3 rejam, ki pa niso v celoti mogle izvajati biovarnostnih ukrepov pa le kontrolo bolezni. Pet rej je ves čas trajanja študije bilo negativnih, saj so izvajale biovarnostne ukrepe. Ena PRRS pozitivna reja je bolezen izkoreninila, tako, da je na koncu študije 6 rej dobilo status prostih PRRS. Štiri pozitivne reje so bolezen eliminirale. Tri reje živijo s PRRS vendar bolezen kontrolirajo. V 3 rejah pa pričakujemo, da v kratkem ne bo več protiteles proti virusu PRRS pri pitancih in bodo dobile status »eliminacija« bolezni.

Podatki o eliminaciji in izkoreninjenju PRRS iz okuženih rej so dostopni predvsem z območja Severne Amerike. Iz evropskega prostora pa je znanstvenih objav, ki bi obravnavale to tematiko, zelo malo. Zaradi tega smo se pri načrtovanju naše študije zgledovali predvsem po vzorih iz ZDA

in Kanade. Celoten koncept eliminacije temelji na uvedbi biovarnostnih ukrepov in zaustavitvi kroženja virusa v plemenski čredi (Dee in sod., 2003; Corzo in sod., 2010; Zimmerman in sod., 2012). Po tem načelu smo v začetku študije obravnavali posamezne reje, v katerih smo želeli doseči eliminacijo in kasnejše izkoreninjenje PRRS. Bistvena razlika med ameriškimi rejami in našimi je v tem, da so tam različne proizvodne faze na ločenih lokacijah. To fizično preprečuje prenos virusa PRRS med kategorijami prašičev. Če se na takšni farmi doseže, da virus v plemenski čredi ne kroži več, to omogoči vzrejo negativnih tekačev in pitancev. Seveda je to mogoče doseči, če na farmi izvajajo sistem vzreje vse noter vse ven. Za kontrolo uspešnosti je najpomembnejše vzorčenje v plemenski čredi. V naši študiji nismo imeli niti ene reje, ki bi ustrezala kategoriji farme z ločenimi proizvodnimi fazami, nikjer niso redili prašičev različnih kategorij v ločenih prostorih, prav tako jim v nekateri rejah ni uspelo vzpostaviti sistema vse noter vse ven. Zaradi teh bistvenih razlik, ugotavljamo v naši raziskavi, je treba v naših razmerah testirati vse kategorije prašičev, da bi sproti spremljali uspešnost ukrepov za eliminacijo.

Zaporedna vzorčenja v celotni plemenski čredi zahtevajo veliko dela in so draga, kljub temu smo z našo raziskavo želeli ugotoviti, kaj se je dogajalo v celotni plemenski čredi med posameznimi odvzemi vzorcev. To smo lahko opravili tudi zaradi sorazmerno majhnega števila plemenskih prašičev v rejah, ki smo jih zajeli v študijo. Z zaporednim vzorčenjem v plemenski čredi spremljamo serološki profil celotne plemenske črede, prav tako lahko s primerjavo vrednosti S/P pri posameznih prašičih sklepamo, da je v plemenski čredi virus, ali da ga ni. V smislu eliminacije PRRS z reje, ki ima vse kategorije na isti lokaciji, pa so podatki serološkega profila plemenske črede pomanjkljivi, saj spremljamo le dogajanje v delu populacije s farme. Z vzorčenjem pri odstavljenih, tekačih in mlajših pitancih dobimo podatke o prisotnosti virusa na farmi. V teh kategorijah se po padcu kolostralnih protiteles virus PRRS zelo hitro širi, zaradi načina reje (kategorije prašičev niso ločene po prostorih, ni sistema reje vse noter vse ven, ni preoblačenja in preobnavljanja, ni ločenega prostora za bolne živali) pa se virus ohranja daljše obdobje, tudi neomejeno dolgo. Pomembna skupina, ki bi jo v prihodnje pri vsakem vzorčenju na farmi vključili samo v serološke preiskave, je kategorija pitancev pred klanjem. Pomen te kategorije pri eliminaciji PRRS je v tem, da so bili prašiči na farmi najmanj 6 mesev. Ta kategorija namreč odseva stanje okužbe, ki se je v tem času odvijala v kategorijah tekačev in mlajših pitancev. V času, ko virus PRRS kroži na farmi, lahko v kategoriji pitancev pred klanjem

ugotovimo protitelesa. Ko pa dosežemo eliminacijo PRRS iz reje, tudi protiteles v krvi pitancev pred klanjem ne dokažemo več. V naši raziskavi smo občasno uporabili takoimenovane "sentinel prašičev", s katerimi smo pomembno zmanjšali stroške vzorčenja in testiranja. Z vključitvijo "sentinel prašičev" v plemensko čredo ali/in v kategorijo mlajših pitancev namreč lahko ugotovimo virus PRRS na farmi. Če v zaporednih vzorčenjih pri "sentinel prašičih" ne bi ugotovili specifičnih protiteles, bi to dokazovalo, da se je kroženje virusa zaustavilo.

Za dokazovanje specifičnih protiteles v vzorcih smo uporabili komercialni komplet ELISA, s katerim lahko preko S/P vrednosti sklepamo o višini titra protiteles pri prašiču. Uporabljena ELISA omogoča pregled velikega števila vzorcev, je preprost za izvedbo in hiter, je visoko specifičen in občutljiv (Diaz in sod., 2012). S spremljanjem višine vrednosti S/P pri posameznih živalih smo lahko ocenili uspešnost izvajanja ukrepov, prav tako pa smo iz povišanja vrednosti S/P sklepali na občasno kroženje virusa v plemenski čredi. Uporabljena ELISA se je izkazal za pravilno izbiro, saj smo v študiji dobili vse potrebne podatke, ki smo jih potrebovali za oceno stanja posamezne reje.

Z uporabljenimi metodo RT-PCR smo dokazovali nukleinsko kislino virusa PRRS v serumskih vzorcih. Uporabili smo komercialni komplet za izolacijo nukleinskih kislin in pomnoževanje izvedli v eni stopnji (angl. One-step RT-PCR). Z določanjem nukleotidnega zaporedja iz pozitivnih vzorcev z metodo RT-PCR smo dobili vpogled v genetsko informacijo posameznih virusov, ki smo jih ugotovili v posamezni reji. Ugotovljeni sevi se genetsko razlikujejo od vakcinalnega seva, kar zmanjšuje učinkovitost uporabljenih vakcin na področju Slovenije. Naši rezultati potrjujejo predhodne ugotovitve v študiji genetske heterogenosti virusov PRRS na območju Slovenije (Toplak in sod., 2010, Toplak in sod., 2012).

V večini rej smo opazili pomanjkljive biovarnostne ukrepe, ponekod pa pred začetkom naše študije teh sploh ni bilo. Vsaka farma mora imeti načrt biovarnostnih ukrepov. Ta med drugim vključuje izobraževanje in urjenje ljudi, ki delajo na farmi, saj je človek pomemben dejavnik učinkovite biovarnosti. Prav tako je zelo pomembno, da veterinarji, ki skrbijo za zdravstveno varstvo prašičev, poznajo biovarnostne ukrepe in jih tudi sami izvajajo. Z upoštevanjem biovarnostnih protokolov zmanjšamo možnost vnosa virusa PRRS in drugih patogenih mikrobov

v čredo in s tem vzdržujemo dobro zdravstveno stanje, ki omogoča dobre proizvodne rezultate. Širitev biovarnosti na večje območje na način, da kmetje na določenem območju izvajajo tako notranje kot zunanje biovarnostne ukrepe, zmanjša širjenje virusa PRRS in vpliva na učinkovito eliminacijo in kasnejše izkoreninjenje PRRS v regiji.

Glavne pomanjkljivosti, ki jih opažamo v naših rejah, so: kupovanje prašičev brez znanega zdravstvenega statusa, vnos novih prašičev na farmo brez karantene, različne kategorije prašičev v istem prostoru, neizvajanje sistema vse noter vse ven, bolnišnični boks v istem prostoru z ostalimi prašiči, dovoljen promet na dvorišču, številni obiski na farmi.

V Sloveniji imamo 3.909 gospodarstev z 1 do 20 plemenskih prašičev, temu sledi 206 gospodarstev z 21 do 50 plemenskih prašičev, nato je 31 gospodarstev z 51 do 100 plemenskih prašičev, 12 gospodarstev s 101 do 200 plemenskih prašičev, 2 gospodarstvi s 501 do 1000 plemenskih prašičev in 2 gospodarstvi, ki imata več kot 1001 plemenskega prašiča (baza VOLOS, Ministrstvo za kmetijstvo in okolje, UVHVVR, podatki iz dne 1.2.2013). Posebnosti naših rej so, da imajo po večini vse proizvodne faze na enem mestu (v takšnih rejah je težje zaustaviti kroženje virusa, saj se virus širi med kategorijami), da je večina manjših rej, da so locirane na SV Slovenije in večina jih je v strnjenih naseljih, tako da so druga od druge oddaljene pogosto le nekaj metrov in da njihov status glede PRRS in drugih bolezni ni znan. Vse naštetorej kaže, da je regionalno usmerjeno ukrepanje zoper PRRS edina ustrezna pot. Naše ugotovitve potrjujejo tudi podatki iz literature, ki govore o tem, da je sanacija zgolj posameznih farm zelo težavna, saj se zdrave živali v takšnem okolju lahko zelo hitro ponovno okužijo (Morrison, 2011; Morrison, 2012; Zimmerman in sod., 2012).

Na podlagi rezultatov naše študije lahko zaključimo, da je eliminacija PRRS ob upoštevanju biovarnostnih ukrepov možna kljub bližini drugih pozitivnih farm prašičev in kljub tehnologiji, kjer so vse proizvodne faze na isti lokaciji. Kljub temu pa bi za Slovenijo priporočili regionalen pristop, saj se na ta način zmanjšujejo možnosti za ponoven vnos virusa PRRS.

Naše ugotovitve potrjujejo tudi podatki iz literature (Morrison, 2011), ki govore tudi o tem, da je sanacija zgolj posameznih farm zelo težavna, saj se zdrave živali v takšnem okolju lahko zelo hitro ponovno okužijo (Morrison, 2011; Morrison, 2012; Zimmerman in sod., 2012). Morrison (2012) navaja, da eliminacija ni smiselna, če so na ožjem območju še druge farme, ki se ne

pridružijo programu, saj bi se farme, ki izvajajo programe eliminacije okužile. V takšnih primerih je pametno bolezen samo kontrolirati, saj v endemični fazi ne povzroča večje škode in se z boleznijo da živeti (Kristensen, 2012). Prav tako je smotrna kontrola bolezni kadar ne moremo zagotoviti osnovnih notranjih biovarnostnih ukrepov.

Zadnje spremljanje pojavnosti PRRS v Sloveniji je bilo v letu 2010, ko smo v okviru letne Odredbe pregledali vse merjasce na prisotnost protiteles proti virusu PRRS. Rezultati so bili primerljivi s podatki iz omenjene študije o pojavnosti PRRS v Sloveniji. Ugotovljena prevalenca protiteles v obeh študijah je znašala približno 48 %. Trenutnega stanja glede PRRS v Sloveniji ne poznamo, saj nad boleznijo ni nikakršnega nadzora. Iz krvnih vzorcev ali kadavrov poginjenih prašičev, ki jih občasno dobimo v preiskavo, smo ugotovili, da se pojavljajo vedno novi sevi virusa PRRS, kar priča o stalnem širjenju virusa v Sloveniji. Iz rezultatov naše raziskave lahko sklenemo, da bi bil v Sloveniji program za eliminacijo in eradikacijo bolezni nujno regionalno usmerjen, kar vključuje določene dejavnosti, ki jih navajajo tudi nekateri avtorji (Morrison, 2011; Elvstroem, 2012; Mieli, 2012; Duinhof in Dam, 2012) in sicer: izobraževanje rejcev in veterinarjev o poteku bolezni, o načinih prenosa in o zunanjih in notranjih biovarnostnih ukrepih, pa tudi javno dostopne evidence o zdravstvenem stanju na farmah.

V okviru regionalnega programa pa je seveda treba vsako rejo obdelati posebej. Iz ugotovitev naše študije, bi bila za večino naših farm najprimernejša metoda eliminacije z naravno prekužitvijo z upoštevanjem dvojne zapore reje in vseh zunanjih in notranjih biovarnostnih ukrepov, saj ima večina naših farm majhno število plemenskih svinj. Za nekatere farme, ki imajo več kot 100 plemenskih prašičev, bi priporočili serumizacijo, saj na ta način hitreje dosežemo prekužitev celotne plemenske črede kot pa z naravno prekužitvijo. Ker se sevi virusa PRRS, ki krožijo v Sloveniji, v nekaterih nukleotidih razlikujejo od vakcinalnega seva Lelystad v 3,9 % do 10,1 % (Toplak in sod., 2012), vakcinacija v smislu eliminacije bolezni na naših farmah ne bi dala zelenega učinka. Po določitvi metode eliminacije PRRS je nujen večkratni zaporeden odvzem vzorcev krvi vseh kategorij in vodenje evidenc proizvodnih rezultatov.

Salmoneloza je svetovni zdravstveni problem, saj gre za zoonozo, ki se najpogosteje prenaša na človeka s prašičjim mesom (Carlson in sod., 2012). Danska je prvi, ki je uvedla program za

controlo pri prašičih že leta 1995 (Nielsen s sod., 2001). Danski program, ki temelji na mesečnem serološkem vzorčenju mesnega soka na prisotnost protiteles proti salmoneli. Na podlagi rezultatov 3 mesečnega testiranja čredo uvrstijo v 3 razrede (Ekeroth s sod., 2003). Na ta način se je seroprevalenca znižala na 32 % (Stege in sod., 2000).

Rezultati naše študije kažejo, da je seroprevalenca v izbranih rejah zelo nizka (21 % plemenski prašiči, 5,8 % pitancev). Potrebno je poudariti, da gre za enkratni odvzem. Treba bi bilo spremljati reje vsaj 3 mesece, da bi lahko uporabili danski sistem izračunanja prevalence. Vsekakor pa bi bila nujna uvedba serološkega monitoringa na klavnica, na večjem vzorcu prašičev, da bi dobili realnejši vpogled nad prevalenco salmonele pri prašičih v Sloveniji.

Plevropnevmonija je ena od ekonomsko pomembnih, nalezljivih, pogosto smrtnih bakterijskih boleznih respiratornega trakta pri prašičih in se pojavlja tako povsod po svetu (Taylor, 2006). Gre za bolezen, ki je endemično prisotna tudi v naših rajah. Tako so rezultati naše študije pričakovani (92,6 % serološko pozitivnih plemenskih prašičev in 45, 8 % pitancev). Ob obiskih rej pa nismo zaznali klinične oblike bolezni. Ob pojavu kliničnih znamenj, pa je nujna antibiotična terapija. Kjer to ni mogoče, je potrebno izboljšati dejavnike okolja, kot sta temperatura in ventilacija, ter uporabiti trdne pregrade med boksi. Nepretrgana medikacija ali aplikacija zdravil v presledkih sta praktična, vendar neprimerna za daljši čas. Strateško zdravljenje je usmerjeno predvsem na rizična obdobja, ki jih ugotovimo s pomočjo patoanatomske diagnostike, kliničnih pregledov in črednih seroloških profilov. Tveganje okužbe bomo zmanjšali s sistemom »vse noter-vse ven«, z ločenim zgodnjim odstavljanjem in z večjimi boksi. Živali kupujemo samo iz farm prostih *A. pleuropneumoniae*, da se izognemo vnosu novih serovarov in rezistentnih sevov. V kronično okuženih čredah je potrebno novo kupljene živali pred vnosom v čredo vakcinirati (Gottschalk in Taylor, 2006; Van Overbeke in sod., 2001). Cepiva, ki so specifična za določen serovar, lahko zmanjšajo smrtnost pri okužbi s homolognim serovarom, ne dajo pa zaščite pri okužbi s heterolognimi serovari (Van Overbeke in sod., 2001).

Leptospiroza je prav tako zoonoza. Vendar v Sloveniji že od leta 2000 ni več pod zakonsko predpisano kontrolo. Diagnostika leptospiroze je težavna, saj so prašiči pogosto okuženi toda brez vidnih kliničnih znakov (Šabec in Valenčak, 2000), kar predstavlja še večjo nevarnost za okužbo ljudi. V treh rejah vključenih v študijo smo dokazali prisotnost protiteles proti leptospiri

(serovar hardjo, serovar grippotyphosa). Na vseh treh rejah so zdravili obolele prašiče in po ponovnem testiranju so vsi bili negativni. Glede na to, da gre za zoonozo bi bil nujen sistematičen nadzor v rejah prašičev, kar nam bi omogočilo hiter začetek ukrepanja in s tem preprečitev širjenja na druge prašiče in ljudi.

V rejah vključenih v študijo sistematično zdravijo plemenske prašiče tako pred endo kot ektoparaziti. Potrdili smo prisotnost več vrst parazitov, kar smo tudi pričakovali. Ugotovili smo prisotnost jajčec bičeglavca iz slepega črevesa, *Trichuris* sp., blastomerizirana strongilidna jajčeca, jajčeca nematoda iz tankega črevesa *Ascaris suum*, vegetativne trofozoite in ciste *Balantidium coli*, ki je fakultativno patogen ciliat iz cekuma prašičev. *B. coli* je normalno (splošno znano) neškodljiv komenzal, ki bi pod določenimi negativnimi vplivi sekundarcev lahko povzročil nekrotične spremembe na sluznici črevesa prašičev. Paraziti dokazani v naši študiji so nepomembni za prašiča, večjega pomena so za človeka.

Patoanatomska sekcija je bila opravljena na poginulih živalih iz 12 rej. Sekcija je bilo premalo, da bi lahko ocenjevali dejansko stanje v naših rejah. Večinoma smo ugotavljali patoanomske spremembe na respiratornih organih ter v črevesju. Večja vrednost sekcije bi bila, če bi bila ciljana (sekcija na podlagi kliničnih znakov in proizvodnih rezultatov). V dveh rejah smo bolj sistematično pregledovali želodce iz klavnice. Pregledali smo deset želodcev zaklanih prašičev iz vsake reje in v vsaki reji sta bila le dva brez sprememb.

V serumu smo pregledovali tudi nivo Ca in aP. V večini rej smo ugotovili, da sta oba mikroelementa bila v mejah referenčnih vrednosti. V organizirani prašičereji ni pričakovati, da bi bilo pomanjkanje teh ključnih mikroelementov.

V študiji smo ugotovili, da rejci ne vodijo evidenc proizvodnih podatkov od odstavitve do konca pitanja. Zaradi pomanjkanja ključnih podatkov ne moremo sklepati na prisotnost bolezni in posledično ne moremo ovrednotiti izgub, ki jih bolezen povzroča oziroma pomena bolezni. Tudi, če ukrepamo zoper določeno bolezen, ne vemo kakšna je izboljšanje proizvodne. Naprimer; naši rejci govorijo, da opažajo največje izgube, ki jih povzroča PRRS v prasilišču oz. zaradi reprodukcijskih motenj. Iz strokovne literature pa je znano, da predstavljajo izgube zaradi reprodukcijskih motenj samo 12 %, medtem, ko izgube zaradi poginov odstavljencev in tekačev ter slabšega prirasta in konverzije krme znašajo 88 % (Zimmerman, 2008).

Biovarnostni ukrepi služijo preprečevanju širjenja bolezni med rejami, znotraj reje kot tudi preprečevanju širjenja zoonoz. Ključ do dobrega zdravstvenega stanja reje je v izvajanju zunanjih in notranjih biovarnostnih ukrepov. V naših rejah opazamo zelo pomanjkljivo izvajanje le-teh. Vemo, da uvedba biovarnostnih ukrepov terja spremembo utečenih navad in obnašanja ljudi, ki delajo na farmi. Žal se zaradi omenjenega številni rejci ne zavedajo ključnega pomena biovarnosti. Izvajanje biovarnostnih ukrepov bo poplačano z boljšim počutjem prašičev, kar bo imelo za posledico povečano produktivnost prašičev, boljšo kakovost mesa in večji zaslužek.

5. LITERATURA

Andreasen M, Nielsen JP, Bækbo P, Willeberg P, Bøtner A. A longitudinal study of serological patterns of respiratory infections in nine infected Danish swine herds. *Prev Vet Med* 2000; 45: 221-35.

Benfield DA, Nelson E, Collins JE, et al. Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *J Vet Diagn Invest* 1992; 4: 127–33.

Burns K. Swine veterinarians resolve to eliminate the PRRS virus. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 1315–6.

Canadian Swine Health Board. National swine farm-level biosecurity standard: Technical committee on Biosecurity. Ottawa, 2010: 29 str
http://www.swinehealth.ca/CSHB_Biosecurity_StandardE.pdf (5.11.2012)

Carlson SA, Barnhill AE, Griffith RW. Salmonellosis. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D’Allaire S, Taylor DJ. *Diseases of swine*. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2006: 821-33.

Corzo CA, Mondaca E, Wayne S, et al. Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res* 2010; 154: 185–92.

Dee SA. Gilt development and PRRS: a model program for the U.S. swine industry. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1997; 19: 228–37.

Dee SA. A protocol for defining breeding herd stability and classifying farms according to PRRS status to identify potential intervention strategies: a summary of 200 farms. In: 15th International Pig Veterinary Society Congress: proceedings. Birmingham: IPVS, 1998: 2.

Dee SA, Deen J, Rossow K, et al. Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus throughout a coordinated sequence of events during warm weather. *Can J Vet Res* 2003; 67: 12–9.

Díaz I, Venteo Á, Rebollo B, et al. Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of Porcine reproductive and respiratory syndrome virusinfection. *J Vet Diagn Invest* 2012; 24(2): 344–8.

Duinhof T, Van Dam B. PRRSV in the Netherlands: actual status, economic impact, planned actions. In: EuroPRRS 2012 Symposium. Understanding and combating PRRS in Europe. COST Action FA902: proceedings. Budapest, 2012: 100–1.

Ekeroth L, Alban L, Feld N. Single versus double testing of meat-juice samples for Salmonella antibodies, in the Danish pig-herd surveillance programme. *Sci Dir* 2003; 60 (2):155-65.

Elli WA. Leptospirosis. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez KJ, Stevenson GW. Diseases of swine. 10th ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2012: 770–8.

Elvstroem A. Views on control and eradication of PRRS in Europe. In: EuroPRRS 2012 Symposium. Understanding and combating PRRS in Europe. COST Action FA902: proceedings. Budapest, 2012: 94.

Flensburg J. Programmes to control or eradicate salmonella in animal production in denmark. *Acta vet Scand Suppl* 1999; 91 : 51-8.

Funk J, Wagstrom E. Preharvest food safety, zoonotic diseases, and the human health interface. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez KJ, Stevenson GW. Diseases of swine. 10th ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2012: 167-8.

Gillespie TG, Carroll AL. Techniques for PRRSV elimination utilizing modified live virus vaccines on single-site swine farms. In: 4th International symposium on emerging and re-emerging pig diseases: proceedings. Rome, 2003: 127-8.

Gjestvang M, Lium B, Framstad T. A field trial to eradicate *Actinobacillus pleuropneumoniae* from seropositive herds using double-dose injections with enrofloxacin (Baytril®) and in-feed medication with tiamulin (Tiamutin®). In: Proceeding of the 20th International Pig Veterinary Society Congress, 2008. Durban, 118.

Gottschalk M, Taylor DJ. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Straw BE, Zimmerman JJ, eds. Diseases of swine. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006; 563-76.

I. Jazbec: Klinično laboratorijska diagnostika, Ljubljana 1990.

Jirawattanapong P, Stockhofe-Zurwieden N, van Leengoed L et al. Pleuritis in slaughter pigs: Relations between lung lesions and bacteriology in 10 herds with high pleuritis. Res Vet Sci, 2010; 88(1): 11-5.

Jusa ER, Inaba Y, Kouno M, et al. Slow-reacting and complement-requiring neutralizing antibody in swine infected with porcine reproductive and respiratory (PRRS) virus. J Vet Med Sci 1996; 58: 749-53.

Kimman TG, Cornelissen LA, Moormann RJ, Rebel MJ, Stockhofe-Zurwieden N. Challenges for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccinology. Vaccine 2009; 27: 3704-18.

Kristensen CS, Angen Ø, Andreasen M, Takai H, Nielsen JP, Jorsal SE. Demonstration of airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 between simulated pig units located at close range. *Vet Microbiol*, 2004; 98: 243-9.

Kristensen CS. PRRSV control in Denmark: status and perspectives. In: EuroPRRS 2012 Symposium. Understanding and combating PRRS in Europe. COST Action FA902: proceedings. Budapest, 2012: 106–7.

Kuhnel K, Blaha T. Investigations on targeted intervention measures for minimizing salmonella cross-contamination during slaughter. In: Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress, vol. 2, 2004; Hamburg, Germany: 651.

Leung FCC. Molecular evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus – What can it really tell us; a trees and forest metaphor! In: EuroPRRS2011 Symposium: proceedings. Novi Sad: Scientific Veterinary Institute “Novi Sad”, 2011: 12–3.

Martelli P, Cordioli P, Alborali LG, et al. Protection and immune response in pigs intradermally vaccinated against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and subsequently exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain. *Vaccine* 2007; 25: 3400–8.

McCaw M. PRRS control: whole herd management concepts and research update. In: Proceedings of the North Carolina Healthy Hogs Seminar. Greenville: North Carolina Swine Veterinary Group, 1995: 1–8.

McCaw M. Effect of reducing cross fostering at birth on piglet mortality and performance during an acute outbreak of porcine reproductive and respiratory syndrome. *J Swine Health Prod* 2000; 8(1): 15–21.

Meng XJ. Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. *Vet Microbiol* 2000; 74: 309–29.

Miller GY, Song Y, Bahnson PB. An economic model for estimating batch finishing system profitability with an application in estimating the impact of preventive measures for porcine respiratory disease complex. *J Swine Health Prod*, 2001; 9(4): 169-77.

Mieli L. Experience on laboratory results on PRRSV control and eradication possibilities. In: EuroPRRS 2012 Symposium. Understanding and combating PRRS in Europe. COST Action FA902: proceedings. Budapest, 2012: 95–99.

Morison RB. How to control and eliminate PRRS from swine herds on farm and regional level. In: EuroPRRS2011 Symposium: proceedings. Novi Sad: Scientific Veterinary Institute “Novi Sad”, 2011: 83–91.

Morrison RB. Control or elimination of PRRS virus? In: 4th European Symposium of Porcine Health Management: proceedings. Bruges: European College of Porcine Health Management, 2012: 60–3.

Murtaugh MP, Gezow M. Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vaccine* 2011; 29: 8192–204.

Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, et al. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *Food Anim Econ* 2005; 227 (3): 385–92.

Nielsen et al. Proceedings of the 17th IPVS Congress. Ames, USA, 2002; 1: 121.

Nielsen R, Andresen LO, Plambeck T, Nielsen JP, Krarup LT, Jorsal SE. Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from pigs in two Danish herds. *Vet Microbiol*, 1997; 54: 35-46.

Opriessnig T, Meng X-J, Halbur PG. Porcine circovirus type 2-associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest*, 2007; 19: 591-615.

Otake S, Dee SA, Corzo C, Oliviera S, Deen J. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet Microbiol* 2010; 145: 198–208.

Pitkin A, Otake s, Dee S. Biosecurity protocols for the prevention of spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Swine Disease Eradication Center, University of Minnesota College of Veterinary Medicine, 2011: 17 str.

http://www.aasv.org/aasv/VIRUS_PRRS_BiosecurityManual.pdf (5.11.2012)

Pol JM, Van-Dijak JE, Wensvoort G, Terpstra C. Pathological, ultrastructural, and immunohistochemical changes caused by Lelystad virus in experimentally induced infections of mystery swine disease (syndrome: porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (PEARS)). *Vet Q* 1992; 13: 137–43.

Prieto C, Vázquez A, Núñez JI, Álvarez E, Simarro I, Castro JM. Influence of time on the genetic heterogeneity of Spanish porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates. *Vet J* 2009; 180: 363–70.

Program monitoringa zoonoz in njihovih povzročiteljev za leto 2013

http://www.arhiv.vurs.gov.si/fileadmin/vurs.gov.si/pageuploads/PDF/2013/PROGRAM_MONITORINGA_ZOONAZ_IN_NJIHOVIH_POVZROCITELJEV_2013.pdf (28.8.2014).

Rautiainen E, Virtala AM, Wallgren P, Saloniemi H. Varying effect of infections with *Mycoplasma hyopneumoniae* on the weight gain recorded in three different multisource fattening pig herds. *J Vet Med B*, 2000; 47: 461-9.

Ropp SL, Wess CE, Fang Y, et al. Characterization of emerging European-like porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the United States. *J Virol* 2004; 78: 3684–703.

Schmidt K (ed). WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe. Federal institute for health protection, Berlin, 1995.

Scotti M, Prieto C, Simarro I, Castro JM. Reproductive performance of gilts following vaccination and subsequent heterologous challenge with European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 2006; 66: 1884–93.

Sørensen V, Jorsal SE, Mousing J. Diseases of the respiratory system. In: Straw BE, Zimmerman JJ, eds. *Diseases of swine*. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006; 149-77.

Stadejek T, Martin B, Oleksiewicz MB, et al. Definition of subtypes in the European genotype of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristic and geographical distribution in Europe. *Arch Virol* 2008; 153: 1479–88.

Stärk KDC. Epidemiological investigation of the influence of environmental risk factors on respiratory diseases in swine: a literature review. *Vet J*, 2000; 159: 37-56.

Stege H, Christensen J, Nielsen JP, Baggesen DL, Enøe C, Willeberg P. Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med*, 2000; 44: 175-88.

Szancer J. Attempts to eradicate some respiratory and enteric pathogens in Danish pig farms. *Pig J*, 2008; 61: 1-5.

Šabec D, Valenčak Z. Bolezni prašičev. Veterinarska fakulteta, 2000: 113.

Štukelj M, Valenčak Z. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) with serumization, natural exposure and vaccination on six pig farms in Slovenia. *Savrem Poljopr* 2012; 61(1): 75–83.

Taylor DJ. *Pig diseases*, 8th ed.: Glasgow: Taylor D.J., 2006: 60–8.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Veterinary Parasitology*, 3rd ed. London: Blackwell Publishing, 2007; 874.

Thacker EL. Porcine respiratory disease complex-what is it and why does it remain a problem? *Pig J*, 2001; 48: 66-70.

Tielen M. Respiratory diseases in pigs: prevalence and economical effect. *Pigs-Misset*, 1995, 11(June): 4-5.

Toma B, Vaillancourt JP, Dufour B, et al. *Dictionary of veterinary epidemiology*. Ames: Iowa State University Press, 1991: 56, 83, 90.

Toplak I, Štukelj M, Zabavnik Piano J, Hostnik P, Grom J, Valenčak Z. Študija o pojavnosti prašičjega reproduktivnega in respiratornega sindroma (PRRS) v Sloveniji v letu 2010. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, Nacionalni veterinarski inštitut, 2010: 40 str.

Toplak I. Molecular epidemiology study of PRRSV in Slovenia and problems with the detection of PRRSV field strains between 2009-2010. In: *The Balkan meeting on PRRS diagnostics: proceedings*. Split: Hrvatski veterinarski inštitut, 2011: 16.

Toplak I, Rihtarič D, Hostnik P, Grom J, Štukelj M, Valenčak Z. Identification of a genetically diverse sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Slovenia and the impact on the sensitivity of four molecular tests. *J Virol Methods* 2012; 179: 51–6.

Thorns CJ. Bacterial food-borne zoonoses. *Rev Sci Tech* 2000; 19: 226-39.

Torremorell M, Moore C, Christianson WT. Establishment of a herd negative for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRSV-positive sources. *Swine Health Prod* 2002; 10(4): 153–60.

Valenčak Z. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Slovenia: evaluation of serology. *Slov Vet Res* 2004; 41(2): 99–101.

Van den Bosch H, Frey J. Interference of outer membrane protein PalA with protective immunity against *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in vaccinated pigs. *Vaccine*, 2003; 21: 3601-7.

Van Overbeke I, Chiers K, Ducatelle R, Haesebrouck F. Effect of endobronchial challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 of pigs vaccinated with a vaccine containing Apx toxins and transferrin-binding proteins. *J Vet Med B*, 2001; 48: 15-20.

Wegener HC, Baggesen DL. Investigation of an outbreak of human salmonellosis caused by *Salmonella enterica* spp. Enterica serovar Infantis by use of pulsed field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol* 1996 32(1): 125-31.

Zimmerman JJ, Benfield DA, Murtaugh MP, Osorio F, Stevenson GW, Torremorell M. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (porcine arterivirus). In: Straw BE, Zimmerman JJ, D’Allaire S, Taylor DJ. *Diseases of swine*. 9th ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2006: 387–417.

Zimmerman JJ. V. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): the disease that keeps bugging us. In: *Facing the new reality – 8th London Swine Conference: proceedings*. London: Ontario, 2008: 63–71.

Zimmerman JJ, Benfield DA, Dee SA, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (porcine arterivirus). In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez KJ, Stevenson GW. *Diseases of swine*. 10th ed. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2012: 461–86.