

Molekularni označevalec WUR10000125 povezan z genetsko odpornostjo na okužbo z virusom PRRS

Sanja Bogičević, Suzana Krhlanko, Milena Kovač

1 Uvod

Prašičji reprodukativni in respiratorni sindrom (PRRS) je še vedno velika grožnja prašičereji po vsem svetu, saj povzroča reprodukcijske motnje svinj, kot tudi respiratorne motnje v kateri koli starostni kategoriji prašičev, kar vodi do neizmerne gospodarske izgube. O bolezni so prvič poročali v ZDA (Keffaber, 1989), v poznih osemdesetih letih prejšnjega stoletja in v Nemčiji leta 1990, kmalu potem je bila epidemija po vsem svetu. V Sloveniji so prvič odkrili protitelesa proti virusu PRRS leta 1994 (Valenčak, 2004), pri uvoženih prašičih v karanteni. Te prašiče so zaklali in uničili njihova trupla, s čimer so preprečili širjenje v ostale reje. Serološko testiranje za virus PRRS je trajalo do leta 2004 in predvidevamo, da se je takrat tudi začelo širjenje virusa PRRS. Novosel in sod. (2016) tudi navajajo, da se to ujema z vstopom Slovenije v EU in odprtjem meja za uvoz živali in prehajanja različnih kužnih bolezni.

Povzročitelj bolezni je virus PRRS (PRRSV), ki spada v rod Arterivirus in je član družine Arteriviridae ter reda Nidovirales. Virus ima ovojnico in pozitivno orientirano RNA. Proteini, ki jih virus sintetizira, so odgovorni za podvajanje in transkripcijo genoma virusa PRRS. Nekateri od teh proteinov (Duan in sod., 2022) sodelujejo pri moduliranju imunskih odzivov gostitelja. RNK virusi imajo visoko stopnjo mutacij. V skladu s tem je virus PRRS zaradi različnih genetskih značilnosti razvrščen v Evropski (genotip 1: reprezentativni sev Lelystad virus) in Severnoameriški (genotip 2: reprezentativni sev VR-2332). Čeprav imajo ti različni genotipi le iste približno 60 % nukleotidne sekvence (Dong in sod., 2017), pa povzročajo podobne klinične simptome.

Med leti 2009 in 2012 so Toplak in sod. (2012) spremljali genetske raznolikosti virusov PRRS v okuženih rejah v Sloveniji. Študija je pokazala prisotnost velikega števila genetsko različnih virusov PRRS, ki jih razvrščamo v 15 genetskih podskupin genotipa 1 in eno genetsko podskupino genotipa 2.

Cilj prispevka je ugotoviti frekvence alela A in alela G oziroma genotipov AA, AG in GG v slovenski populaciji ter ugotoviti ali bi nam selekcija na ugodni alel G (pri okužbi z virusom PRRS) pomagala pri omejitvi in kontroli bolezni.

1.1 Način okužbe z virusom PRRS

Visoka prenosljivost je ena od glavnih značilnosti virusa PRRS, ki je močno prispevala k hitremu širjenju po svetu. Najpogostejši način vnosa virusa PRRS v rejo je nakup živih okuženih prašičev. Lahko pa se prenaša tudi posredno z opremo, orodjem, obleko, vodo, hrano, živimi prenašalci (vektorji) ali aerosolom. Otake in sod. (2002a) so dokazali, da je virus PRRS prisoten na oblekah, obutvi in rokav delavcev, še kar 60 minut po tem, ko so prišli v stik z akutno obolelimi živalmi.

Prašiči so dovzetni za okužbo po več poteh (Zimmerman in sod., 2006), in sicer oralno, intranazalno, parenteralno, intramuskularno, intrauterino in vaginalno. Virus se prenaša s slino, nosnimi izcedki, urinom, blatom, izločkih mlečnih žlez, semena, ob ščipanju ušes, rezanju repkov, ščipanju zobkov, tetoviranju in aplikaciji zdravil ter vakcin. Ker je virus PRRS prisoten tudi v slini, se lahko prenaša ob ugrizu, odrgninah in praskah, ki nastanejo med agresivnim obnašanjem živali. Taylor (2006) je ugotovil da lahko virus PRRS lahko prenašajo tudi komarji (*Aedes vexans*) in domača muha (*Musca domestica*). Prenos virusa na dolge razdalje poskušajo razlagati s širjenjem virusa po zraku, kar pa je poskusno težko dokazati. Otake in sod. (2002b) so dokazali, da se virus prenaša le na kratke razdalje (2,5 m). Medtem pa Zimmerman in sod. (2006), niso dokazali prenosa virusa PRRS na razdaljah 15 in 30 m. Prenos virusa po zraku je učinkovitejši pozimi (Albina, 1997), pri nižjih temperaturah in visoki vlažnosti. Raziskave so pokazale, da je rizik vnosa virusa PRRS v čredo manjši na področju z manjšo gostoto prašičev.

Breje svinje, ki se okužijo v pozni brejosti, izločajo virus preko mleka. Znan pa je tudi prenos virusa, transplacentalno (zlasti v zadnji tretjini brejosti) iz okužene breje svinje na zarodke. Posledično okužba privede do smrti zarodkov, abortusov ali prasitev okuženih in slabotnih pujskov. Virus PRRS se razmnožuje predvsem v prašičjih alveolarnih makrofagih in v makrofagih drugih tkiv. Razmnožuje se tudi v zarodnih celicah testisov (spermatociti) pri merjascih (Rowland in sod., 2012; Prieto in Castro, 2005). V svoji študiji Prieto in Castro (2005) tudi navajajo, da so številne študije pokazale da je veliko prašičev, ne glede na starost, okuženih več tednov, če ne celo mesecev, in da so večino ali ves ta čas potencialni vir okužbe za druge.

Različni klinični izidi po okužbi s virusom PRRS so posledica kompleksnega nabora interakcij med virusom in gostiteljem (prašičem). Po okužbi viremija (prisotnost virusa v krvi) pri mladih prašičih traja približno 28 dni. V tem času virus primarno napada makrofage v pljučih. Vnetni odziv, ki je posledica okužbe in odstranitve alveolarnih makrofagov, je odgovoren za nastanek akutnih respiratornih znakov. Po izginotju virusa iz krvi se razmnoževanje virusa nadaljuje v celicah makrofagov v limfoidnem tkivu, vključno z mandlji (tonsils) in bezgavkami. Virus je možno izolirati iz bezgavk več kot 100 dni po okužbi in virus se zlahka prenaša na prašiče, ki nimajo protiteles proti virusu PRRS (naivni prašiči). Replikacija virusa v gostitelju postopoma upada, dokler virus ne izumre, približno 200 dni po okužbi (Rowland in sod., 2012).

1.2 Klinična slika

Tipičnih kliničnih znakov okužbe z virusom PRRS ni. Po okužbi prašičev rejci opazijo motnje v reprodukciji, respiratorne težave, slabšo konverzijo krme ter slabši prirast. Virusi PRRS so različno virulentni, kar se odraža v različni intenzivnosti kliničnih znakov po vnosu virusa v rejo. Po okužbi opazimo pri posameznih prašičih najprej akutno viremijo (virus v krvi).

Potek bolezni lahko razdelimo na več obdobj. Prvo obdobje traja 8 tednov po okužbi. Svinje so neješčne, apatične, težko dihajo, pojavi se povišana telesna temperatura, opazimo večji delež pregonitev. Abortusi se lahko pojavijo že 22. dan brejosti, večina abortusov pa je zabeleženih v drugem obdobju brejosti. Poveča se število mrtvorojenih pujskov zaradi prezgodnjih prasitev in poveča se delež izgub v prvem tednu starosti, kljub temu pa v gnezdu najdemo povsem normalno razvite pujske. V okuženih gnezdih se poveča frekvenca razkrečenih pujskov. Prieto in Castro (2005) so opazili da pljučnica, ki jo povzroča okužba z virusom PRRS pri mladih prašičih hujša kot pri odraslih in se lahko zaplete zaradi sočasnih bakterijskih okužb. S starostjo pujskov se klinični znaki bolezni omilijo in pri pitancih virus v večini primerov ne povzroča večjih težav. Pri merjascih opazimo padec v kvaliteti semena.

V drugem obdobju, ki traja približno 6 tednov, je značilno splošno izboljšanje zdravstvenega stanja črede, kljub temu pa se pojavljajo mumificirani pujski in delež prasitev je še vedno nizki. V tretjem obdobju je še vedno zmanjšano število prasitev in poviša se število pregonitev. Šele 26 tednov po okužbi zaznamo izboljšanje stanja v reji, lahko zaradi pridobljene imunosti v plemenski čredi, vendar v večini primerov ne pride do samoozdravitve okuženih rej (Taylor, 2006), brez izvedenih dodatnih ukrepov, saj se virus pri posameznih živalih ohranja dolgo obdobje in vedno znova prenaša na novorojene živali in starejše živali, ki se vedno znova okužujejo.

1.3 Preprečevanje virusa

Vnos virusa PRRS je potrebno preprečiti, to lahko storimo z laboratorijskim pregledom vseh kupljenih prašičev, s preoblačenjem delavcev, s kontrolirano dostavo različnih stvari v rejo. Potrebno je omejiti vstop obiskovalcev v rejo. Virus PRRS dolgo ohranja kužnost zlasti v hladnih in vlažnih mesecih, zato je vse orodje in pripomočke potrebno očistiti, razkužiti in osušiti. Potrebno je tudi redno izvajati deratizacijo, zatiranje muh ter onemogočiti dostop pticam. Novi prašiči, ki jih želimo vnesti v negativno čredo, morajo izvirati iz rej, ki so proste PRRS. Vnos novih prašičev pa mora biti izveden preko karantene, ki naj traja vsaj 6 tednov. Prašiči morajo biti v karanteni pregledani in brez protiteles ter virusa PRRS.

1.4 Načini odstranitve virusa PRRS iz okužene reje

Specifičnega zdravljenja pri okužbi z virusom PRRS ni. Naravna prekužitev je primerna za manjše reje, izvedemo dvojno zaporo in počakamo, da se vse živali prekužijo. Cepljenje je učinkovito le, kadar je hlevski podtip virusa soroden z virusom v cepivu. Serumizacija naredimo tako, da iz serumov okuženih prašičev, pripravimo cepivo, s katerim cepimo vse plemenske prašiče naenkrat.

1.5 Mehanizem delovanja virusa PRRS

Celične stopnje virusne patogeneze vključujejo adsorpcijo, penetracijo, odstranjevanje ovojnice virusa, transkripcijo, translacijo, replikacijo, sestavljanje in sproščanje virusov. Neposreden stik med okuženimi prašiči in tistimi, ki nimajo protiteles proti virusu PRRS (naivni prašiči), je prevladujoča pot prenosa virusa PRRS. Replikacija virusa PRRS se dogaja v liniji makrofagi/monociti. Razkritje površine sluznice virusu PRRS povzroči replikacijo virusa v regionalnih makrofagih (Rossow, 1998), podaljšano viremijo in sistemsko porazdelitev virusa v druge populacije makrofagov.

Da bi se uspešno razmnoževali in širili, so virusi razvili različne strategije za izognitev obrambnim sistemom gostitelja. Z virusom okužena celica prične povečano izločati interferone, ki sočasno okrepijo delovanje drugih celic imunskega sistema, kar privede do aktivacije T limfocita in izločanja IFN- γ (interferona- γ), kar vodi do uničenja virusa. Beura in sod. (2010) in Sun in sod. (2012) so ugotovili, da je za virus PRRS značilna zanemarljiva aktivacija IFN tipa I in s tem v povezavi obstojnost virusa za daljše obdobje. Interferoni tipa I (IFN- α/β) so med najmočnejšimi protivirusnimi citokini, ki jih sprožijo virusne okužbe. IFN-I aktivira aktivira gen GBP1 (Duan in sod., 2022).

Gen GBP1 je član družine gvanilat vezavnih proteinov (GBP). Gen GBP1 je odgovoren za učinkovito protivirusno delovanje in lahko zagotovi obrambo pred različnimi RNA virusi in je tudi povezan z odpornostjo prašičev na

okužbo z virusom PRRS. Duan in sod. (2022) so v svoji študiji pokazali, da prekomerno izražanje gena GBP1 znatno zavira okužbo s virusom PRRS, medtem ko je knockdown (izbit gen) gena GBP1 spodbujal virusno okužbo. Ista študija je pokazala, da gen GBP1 zavira okužbo s virusom PRRS in medcelično širjenje, kar bi lahko delno pripisali motnji tvorbe aktinskih filamentov, ki tvorijo citoskeletne strukture. Nepoškodovana struktura citoskeleta je potrebna za učinkovito replikacijo virusa PRRS znotraj gostitelja.

1.6 Marker WUR1000125 v genu GBP1

Genetsko osnovo odpornosti gostitelja na virus PRRS, so odkrili Boddicker in sod. (2012) z asociacijsko študijo na celotnem genomu. V študijo so vključili fenotipske lastnosti, kot sta povečanje teže in nivoji viremije (prisotnost virusa v krvi). Za analiziranje povezave med genotipi in fenotipi so uporabili Bayesove genomske selekcijske metode. Regija (139,136,697-140,420,778) na kromosomu 4 je pokazal asociacijo (povezavo) s povečanjem teže in nivojema viremije. SNP v tej regiji je imel močno neravnovesje zaradi vezave (ang. linkage disequilibrium) povezavo s SNP WUR1000125. Študija je pokazala da WUR1000125 AA genotip ima višje nivoje viremije (virusa v krvi) in zmanjšanje telesne mase, kot prašiči z AG genotipom. GG genotip je pokazal podobnost z AG genotipom. Malo število živali je imelo genotip GG. Ugotovitev je bila, da je alel A je nezaželen v povezavi s PRRS, alel G pa je zaželen alel.

WUR1000125 je polimorfizem G>A in ima pristopno številko v SNP podatkovni bazi rs80800372. WUR1000125 se nahaja v 3' nekodirajoči regiji (3'UTR) GBP1 gena. Polimorfizem G>A v 3'-UTR regiji lahko potencialno vplivajo na stabilnost transkripta in tako vpliva na hitrost sinteze beljakovin. Poleg tega je alternativna uporaba poliadenilacijskih mest regulator ekspresije beljakovin, kar vpliva na stabilnost, transport in translacijo mRNA. GBP1 gen ima proksimalno in distalno poliadenilacijsko mesto, pa alternativna uporaba ta dva mesta daje dve različni dolžini 3'UTR mRNA transkripta. Alel A daje krajši in bolj stabilen transkript, ker se poliadenilacija mRNA začne na proksimalnem polidaniacijem mestu. Alel G začne poliadenilacijo mRNA z distalnega mesta pa se dobi daljši mRNA transkript (Gol in sod., 2015; Khatun in sod., 2020), ki je manj stabilen zaradi česa je nižje izražanje mRNA GBP1 gena in boljši T celicni odziv na virus PRRS.

Medtem ko je alel A pri zdravih prašičih povezan s povečanjem telesne mase, je ob okužbi z virusom PRRS neugodni, ker je povezan z višjimi ravnimi titra (koncentracija virusa v krvi) virusa PRRS in zmanjšanjem telesne mase. Ob okužbi je ugodnejši alel G (Gol in sod., 2015; Abella in sod., 2015; Boddicker in sod., 2012), saj zmanjša koncentracijo PRRS virusa v krvi, spodbuja rast ter zmanjša izgubo prašičev in delež abortusov. Delež abortusov je pri svinjah z genotipom AA 2.6 krat večji (Pena in sod., 2019), kot pri svinjah z genotipom AG. Vpliv genotip GG pa je podoben vplivu genotipa AG.

2 Materiali in metode

V analizo smo vključili 1708 vzorcev ušesnih tkiv prašičev. Vzorci so bili zbrani na terenu in poslani v genotipizacijo. V analizo smo zajeli prašiče maternalnih in terminalnih pasem ter hibridov, kot tudi prašiče križance in prašiče avtohtone pasme KP. Genotipizacijo smo opravili z Gene SeekGenomic Profiler Porcine (GGP) 50KChip za sodobne pasme in Gene SeekGenomic Profiler Porcine 80KChip za pasmo krškopoljskega prašiča. Informacija, ki jo pridobimo iz laboratorija, je približno 50 697 ter 68 516 SNP-jev, ki so rasporejeni po celotnem genomu.

Pri pregledovanju kakovosti genotipov in pregledovanju ter čiščenju podatkov smo uporabili prosto dostopni pro-

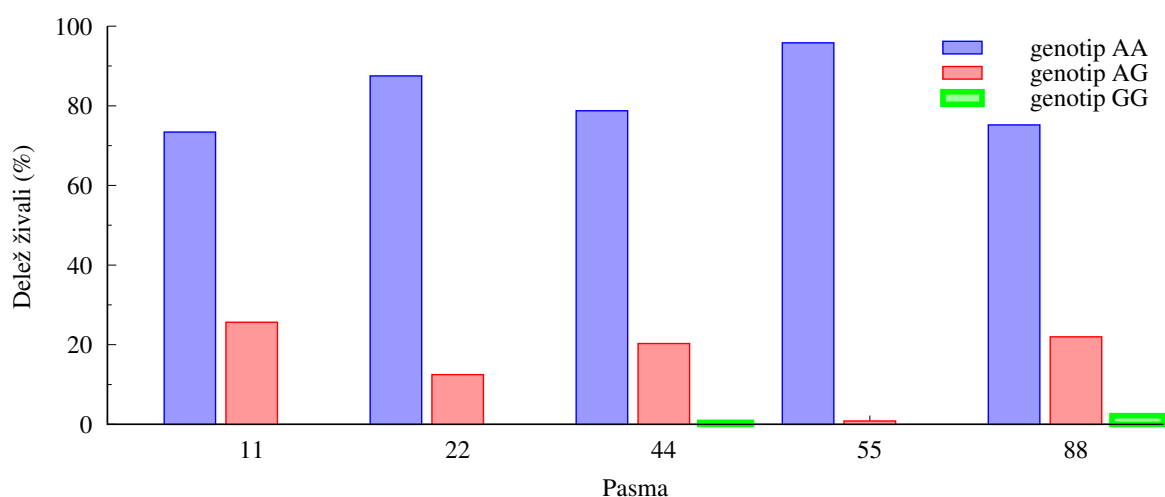
gram PLINK verzija 1.9, (Chang in sod., 2015). PLINK je močno orodje, s pomočjo katerega se izvede analiza celotnega genoma. Lahko ga tudi uporabljamo za čiščenje podatkov pod določenimi pogoji (Chang, 2020). Program zahteva poseben zapis v osnovnih datotekah s končnicami .map in .ped, ki smo jih pripravili z uporabo makrojev v sklopu statističnega paketa SAS 9.4. pri pripravi podatkov genotipizacije in sestavljanje genotipov.

3 Rezultati

Med genotipiziranimi vzorci je bil pri čistopasemskih prašičih delež genotipa AA med 73.4 % in 95.8 % (Tabela 1). Slovenski mesnati landras (55) ima frekvenco genotipa AA 95.8 %, kar je za pričakovati, ker je za pasmo značilna izredno dobra rast. Alel A je pri zdravih prašičih povezan s povečanjem telesne mase in je pogostejši pri sodobnih linijah, izbranih za povečano stopnjo rasti. Slovenski landras (11) in pietren (44) imata frekvenco genotipa AA 73.4 % in 78.6 %, kar se sklada z značilnostjo pasme, kar bi lahko povezali značilnosmi obeh pasem namreč obe sta znani po nekoliko slabši prirasti kot prej omenjeni slovenski mesnati landras. Frekvenca genotipa AG se giblje med 13.0 % in 25.6 %. Frekvenca genotipa GG je pri pietrenu 0.5 % in 2.2 % pri krškopoljskem prašiču, medtem ko ta genotip pri ostalih pasmah ni prisoten (Figure 1). Krškopoljski prašič ima 13.7 %, tako kot druge avtohtone pasme (Geraci in sod., 2019) visok delež alela G. Krškopoljskega prašiča odlikuje izredna odpornost, dobra prilagodljivost na skromne razmere reje in prehrane.

Tabela 1: Frekvence genotipov po pasmah

Pasma	AA		AG		GG		Frekvenca alela	
	štev.	%	štev.	%	štev.	%	%	%
11	232	73.4	81	25.6	0	0.0	86.2	12.8
22	21	87.5	3	12.5	0	0.0	93.8	6.3
44	163	78.7	42	20.3	1	0.5	88.9	10.6
55	115	95.8	1	0.8	0	0.0	96.3	0.4
88	1097	75.2	321	22.0	32	2.2	86.2	13.2
Skupaj	1628	76.6	448	21.1	33	1.6	87.1	12.1



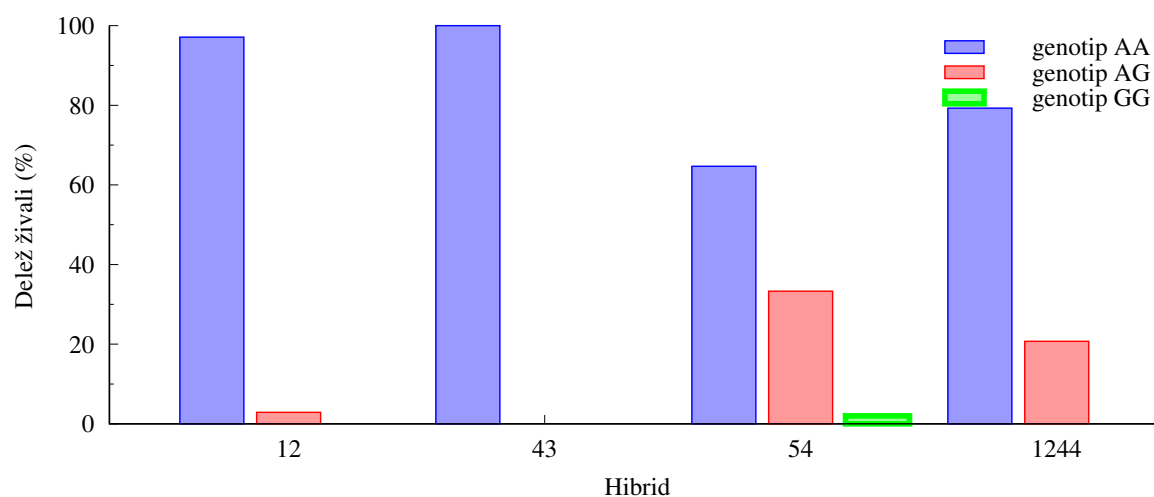
Slika 1: Delež genotipov pri čistopasemskih prašičih

Med genotipiziranimi vzorci iz zbirke podatkov je pri prašičih križancih 1244 frekvenca genotipa AA 79.3 %,

frekvenca genotipa AG je 20.7 %, frekvenca genotipa GG je 0.0 % (Tabela 2). Hibrid 1244 je križanec hibrida 12 (slovenskega landarsa 11, slovenskega belega prašiča 22) in pietrena 44 pa so deleži genotipov AA, AG in GG podobni deležu genotipov pri pasmi 11, pasmi 22 in pasmi 44. Pri hibridih 43 (križanje med pietrinom 44 in durokom 33) naj ne bi pričakovali frekvenco genotipov AA 100.0 % glede na pogostost genotipov AA, AG in GG pri pietrenu 44. Razlog za rezultat je da imamo le 7 genotipiziranih križancev 43. Hibrid 54 (križanec slovenskega mesnatega landrasa 55 in pietrena 44) pa ima delež genotipov AA, AG in GG podoben deležu genotipov pri pasmi 55 in pasmi 44.

Tabela 2: Frekvence genotipov pri hibridih

Hibrid	AA		AG		GG		Frekvenca alela	
	štev.	%	štev.	%	štev.	%	%	%
12	34	97.1	1	2.9	0	0.0	98.6	1.4
43	7	100.0	0	0.0	0	0.0	100.0	0.0
54	33	64.7	17	33.3	1	2.0	81.4	18.6
1244	23	79.3	6	20.7	0	0.0	89.7	10.4
99	35	94.6	2	5.4	0	0.0	97.3	2.7
Skupaj	132	83.0	26	16.4	1	0.6	91.2	8.8



Slika 2: Delež genotipov pri hibridih

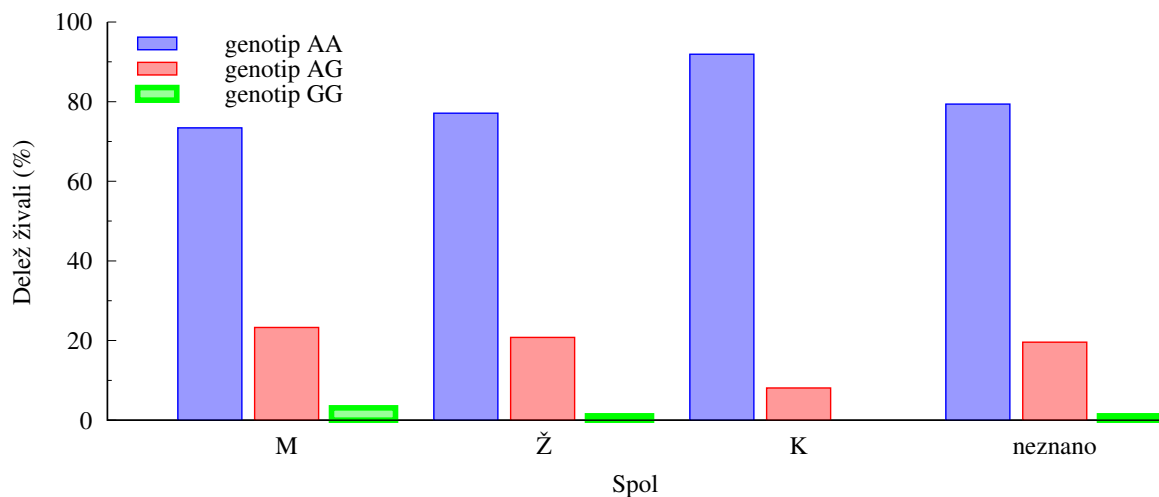
Med genotipiziranimi vzorci iz zbirke podatkov je pri merjascih (Tabela 3) frekvenca genotipa AA 79.3 %, genotipa AG 20.7 %, genotip GG ni prisoten. Pri pasmi pietren 44 in slovenski mesnati landars 55 imamo več genotipiziranih merjascev. Pri svinjah je frekvenca genotipa AA 100.0 % in imamo samo 7 genotipiziranih svinj. Pri kastratih frekvenca genotipa AA je 65.4 %, frekvenca genotipa AG je 32.7 % in frekvenca genotipa GG je 1.9 %.

Tabela 3: Frekvence genotipov po spolih

Spol	AA		AG		GG		Frekvence alela	
	štev.	%	štev.	%	štev.	%	A	G
M	356	73.4	113	23.3	15	3.1	85.1	14.7
Ž	1240	77.1	335	20.8	18	1.1	87.5	11.5
K	91	91.9	8	8.1	0	0.0	96.0	4.0
neznano	73	79.4	18	19.6	1	1.1	89.1	10.9
Skupaj	1760	77.0	474	20.7	34	1.5	87.4	11.9

Tabela 4: Frekvence genotipov po plemenskih živalih

Spol	AA		AG		GG		Frekvence alela	
	štev.	%	štev.	%	štev.	%	A	G
PL. M	141	70.85	52	26.1	6	3.0	83.9	16.1
PL. S	800	78.13	201	19.6	9	0.9	88.0	10.7
Skupaj	941	76.9	253	20.7	15	1.2	87.3	11.6



Slika 3: Delež genotipov po spolih

Frekvence genotipov in alelov iz literature je podobna našim rezultatom (Tabela 5).

4 Razprava

Virus PRRS je odgovoren za velike proizvodne izgube zaradi problemov v brejosti in boleznih dihal pri pitancih. Zdravilo zanj ne obstaja. Cepiva, ki so na voljo, niso prav učinkovita zaradi različnih genskih podskupin virusa, različne virulentnosti sevov ter tveganja okužbe po cepljenju. Selekcija prašičev, ki so genetsko bolj odporni prot okužbi z virusom PRRS, je način, da se izboljša zdravstveno stanje črede.

Frekvence alelov polimorfizma WUR10000125 (rs80800372), pridobljene v tej študiji, so podobne rezultatom drugih študij (Boddicker in sod., 2012; Geraci in sod., 2019; Kostyunina in sod., 2019; Dunkelberger in sod., 2017; Abella in sod., 2015), ki so pokazale, da je neugodni alel A (pri okužbi z virusom PRRS) najpogostejši v

sodobnih linijah, zaradi selekcije na boljšo rast (v razponu od 70 % do 90 %; Boddicker et al., 2012; Abella et al., 2016). Frekvenca alela G je nizka, podobno kot v omenjenih študijah.

Frekvenca alela G je višja pri avtohtoni pasmi krškopoljskega prašiča 13.17 % v primerjavi z sodobnimi pasmami. To je v skladu s študijo Geraci in sod. (2019), kjer so ugotovili da je frekvenca alela G višja pri vseh štiri lokalnih avtohtonih pasmah prašičev, kar posredno podpira razlago, da je odpornost avtohtonih pasem večja v primerjavi z sodobnimi pasmami.

Najverjetnejši razlog za manjšo pogostost ugodnega alela G navaja Dunkelberger in sod. (2017), in sicer da ni selektivne prednosti alela G v odsotnosti virusa PRRS in zato ta alel ni bil izbran, ker se večina selekcije izvaja v okolju brez bolezni.

Tabela 5: Frekvence alela iz literature

Pasma/križanec	Država	Frekvenca genotipov			Frekvenca alela		Vir
		AA	AG	GG	A	G	
Landras in veliki beli prašič	Španija	68.40	25.60	6.00	99.81	0.19	Pena in sod. (2019)
Landras in veliki beli prašič	Španija	86.80	13.20	0.00	93.40	6.60	Abella in sod. (2015)
Durok	Španija	67.10	30.00	2.90	82.20	17.80	Abella in sod. (2015)
Ital.veliki beli prašič	Italija	87.10	12.00	0.09	93.00	7.00	Geraci in sod. (2019)
Apulo calabrese	Italija	75.00	25.00	0.00	87.50	12.50	Geraci in sod. (2019)
Casertana	Italija	80.00	20.00	0.00	90.00	10.00	Geraci in sod. (2019)
Cinta Sense	Italija	81.20	18.80	0.00	83.20	16.80	Geraci in sod. (2019)
Nero siciliano	Italija	73.10	19.20	7.70	84.00	16.00	Geraci in sod. (2019)
Veliki beli prašič	Rusija	94.66	4.85	0.49	97.10	2.90	Kostyunina in sod. (2019)
Landras	Rusija	77.68	17.86	4.46	86.60	13.40	Kostyunina in sod. (2019)

Okužba z virusom se sproži s prepoznavanjem specifičnega receptorja na celici. Prisotnost in odsotnost celičnih receptorjev odločata o tem, ali so celične linije dovzetne na okužbo z virusom PRRS ali ne, za okužbo z virusom PRRS. CD169 in CD163 sta dva ključna receptorja pri okužbi z virusom PRRS. CD169 je receptor, ki veže virus PRRS in posreduje pri pritrditvi in internalizaciji (vstopu) virusa v celico. CD163 je odgovoren za odstranitve ovojnice virusa in sproščanja virusne RNA v citoplazmo, replikacijo virusa, sestavljanje in sproščanje virusa PRRS. Obstaja možnost, da bi polimorfizmi, kot so SNP-ji v receptorjih CD169 in CD163, lahko spremenile proteinske strukture in končno povzročile funkcionalno spremembo receptorjev oziroma dovzetnost za okužbo. Še vedno je malo znanega o polimorfizmih receptorjev CD169 in CD163. V literaturi smo zasledili SNP z pristopno številko v SNP podatkovni bazi rs 345830287 (c.878A>G). To je mutacija v CD169 genu v eksonu 4 in mutacija povzroči zamenjavo amino kisline histidin na poziciji 239 z amino kislino arginin. Mutacija vpliva na število belih krvnih celic v obtoku. Živali z genotipom GG imajo večje število belih krvnih celic kot živali z AA genotipom. Alel G vpliva na večje število belih krvnih celic, kot alel A. Bele krvne celice so obramba proti okužbam ali vdorom škodljivih molekul, tudi so bistvenega pomena za prirojen imunski sistem. Tega markerja (rs 345830287) ni na nobenem komercialnem čipu, se posebej naroča pri ponudniku genotipizacij. Enako velja tudi pri SNPi G1640T; C1654A; C4175T v genu CD 169 in SNPi G2277A; A2552G; C2700A v genu CD163.

5 Zaključki

- Med genotipiziranimi vzorci je pri čistopasemskih prašičih delež genotipa AA med 73.4 % in 95.8 %. Frekvenca genotipa AG je od 0.8 % oziroma 1 žival pri pasmi slovenski mesnati landras 55 do 25.6 %. Fre-

kvenca genotipa GG je pri pietrenu 0.5 % in pri krškopoljskem prašiču 2.2%, medtem ko ta genotip pri ostalih pasmah ni prisoten. Frekvenca alela A se giblje med 86.2 % do 96.3 %. Frekvenca alela G se giblje od 0.4 % do 12.8 %.

- Med genotipiziranimi vzorci je pri hibridih delež genotipa AA med 64.7 % in 100.0 %. Frekvenca genotipa AG je od 33.3 % oziroma 17 živali od 34 živali hibrida 54 in 20.4 % pri hibridu 1244. Frekvenca genotipa GG je pri hibridu 54 2.0 %, medtem ko ta genotip pri ostalih pasmah ni prisoten. Frekvenca alela A se giblje med 81.4 % do 100 %. Frekvenca alela G se giblje od 1.4 % do 18.6 %.
- Med genotipiziranimi vzorci je pri merjascih frekvenca genotipa AA 73.4 %, genotipa AG 23.3 %, genotip GG 3.1 %. Pri svinjah je frekvenca genotipa AA 77.1 %, genotipa AG 20.8 %, genotip GG 1.1 %. . Pri kastratih frekvenca genotipa AA je 91.9 %, frekvenca genotipa AG je 8.1 % in genotipa GG ni prisoten. Frekvenca alela A se giblje med 81.7 % do 100.0 %. Frekvenca alela G se giblje od 4.0 % do 16.2 %.

Najbolj obetaven pristop kontroli PRRS je vključevanje WUR označevalca, ki je povezan z odpornostjo na virus PRRS, v selekcijski program.

Pred selekcijo WUR alela za izboljšanje imune odzivnosti gostitelja na virus PRRS treba preveriti ali alel G (ugoden pri okužbi z virusom PRRS) morda ima škodljive vplive na lastnosti prireje kadar ni okužbe z virusom PRRS.

Literatura

- Abella G., Pena R., Nogareda C., Armengol R., Vidal A., Moradell L., Tarancon V., Novell E., Estany J., Fraile L. 2015. Expression profiling of the GBP1 gene as a candidate gene for porcine reproductive and respiratory syndrome resistance. *Res. Vet. Sci.*, 104: 117–122
- Albina E. 1997. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (prrs): An overview. *Vet. Microbiol.*, 55: 309–316
- Beura L., Sarkar S., Kwon B., Subramaniam S., Jones C., Pattnaik A., Osorio F. 2010. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus nonstructural protein 1 modulates host innate immune response by antagonizing irf3 activation. *Journal of virology*, 84: 1574–1584
- Boddicker N., Waide E., Rowland R.R.R., Lunney J.K., Garrick D.J., Reecy J.M., Dekkers J.C. 2012. Evidence for a major qtl associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. *Journal of animal science*, 90: 1733–1746
- Chang C.C. 2020. Data Management and Summary Statistics with PLINK. V: *Statistical Population Genomics*. Duthel J.Y. (ur.). New York, Humana Press: 49–65
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S.M., Lee J.J. 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4: 7, doi:10.1186/s13742-015-0047-8: 16 str.
- Dong J., Wang Y., Yu L., Zhang P., Liu X., Zhang L., Liu Y., Liang P., Wang L., Song C. 2017. Pathogenicity of a newly emerged recombined porcine reproductive and respiratory syndrome virus strain (subgenotype III) in China. *Vet. Microbiol.*, 210: 162–166

- Duan H., Dong H., Wu S., Ren J., Zhang M., Chen C., Du Y., Zhang G., Zhang A. 2022. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus non-structural protein 4 cleaves guanylate-binding protein 1 via its cysteine proteinase activity to antagonize GBP1 antiviral effect. *Vet. Rec.*, 53: doi: 10.1186/s13567-022-01071-8: 21 str.
- Dunkelberger J., Mathur P., Lopes M., Knol E., Dekkers J. 2017. A major gene for host response to porcine reproductive and respiratory syndrome is not unfavorably associated with overall performance under nonchallenging conditions in commercial pig lines. *J. Anim. Sci.*, 54: doi.org/10.2527/jas.2017.1524: 10 str.
- Geraci C., Varzandi A.R., Schiavo G., Bovo S., Ribani A., Utzeri V.J., Galimberti G., Buttazzoni L., O. O., Gallo M., Dall'Olio S., Fontanesi L. 2019. Genetic markers associated with resistance to infectious diseases have no effects on production traits and haematological parameters in italian large white pigs. *Livest. Sci.*, 223: doi.org/10.1016/j.livsci.2019.03.003: 7 str.
- Gol S., Estany L., Pena R. 2015. Expression profiling of the GBP1 gene as a candidate gene for porcine reproductive and respiratory syndrome resistance. *Anim. Genet.*, 46: 599–606
- Keffaber K.K. 1989. Swine reproductive failure of unknown etiology. *Am. Assoc. Swine Pract. Newsl.*, 1: 1–9
- Khatun A., Nazki S., Jeong C.G., Gu S., Salam Mattoo S., Lee S., Yang M.S., Lim B., Kim K.S., Kim B., Lee K.T., Park C.K., Lee S.M., Kim W.I. 2020. Effect of polymorphisms in porcine guanylate-binding proteins on host resistance to prrsv infection in experimentally challenged pigs. *Vet. Rec.*, 90: doi: 110.1186/s13567-020-00745-5: 14 str.
- Kostyunina O.V., Melnikova E.E., Fornara M.S., Bardukov N.V., Sermyagin A.A., Brem G., Zinovieva N.A. 2019. Study of wur10000125 polymorphism association with meat, fattening and reproductive traits of landrace and large white pig breeds. *Agricultural Biology*, 54: doi.org/10.15389/agrobiology.2019.4.713eng: 9 str.
- Novosel D., Petrović T., Acinger-Rogić Ž., Štukelj M. 2016. Epidemiology and status of porcine reproductive and respiratory syndrome in the western balkan region: challenges and prospects. *Slo. Vet. Res.*, 53: 185–193
- Otake S., Dee S., Rossow K., Deen J., Joo H., Molitor T., Pijoan C. 2002a. Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *Journal of Swine Health and Production*, 10: 59–65
- Otake S., Dee S.A., Jacobson L., Torremorell M., Pijoan C. 2002b. Evaluation of aerosol transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus under controlled field conditions. *The Veterinary record*, 150: 804–808
- Pena R.N., Fernández C., Blasco-Felip M., Fraile L., Estany J. 2019. Genetic markers associated with field PRRSV-induced abortion rates. *Viruses*, 11: 12 str., doi:10.3390/v11080706
- Prieto C., Castro J.M. 2005. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. *Theriogenology*, 63: 1–16
- Rossow K.D. 1998. Pporcine reproductive and respiratory syndrome. *Vet. Pathol.*, 35: doi: 10.1177/030098589803500101: 20 str.

- Rowland R., Lunney J., Dekkers J. 2012. Control of porcine reproductive and respiratory syndrome (prrs) through genetic improvements in disease resistance and tolerance. *Front. Genet.*, 3: doi: 110.3389/fgene.2012.00260: 6 str.
- SAS Inst. Inc. 2018. The SAS Studio University Edition, Release 3.8. Cary, NC
- Sun Y., Han M., Kim C., Calvert J.G., Yoo D. 2012. Interplay between interferon-mediated innate immunity and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Viruses*, 4: 424–446
- Taylor D.J. 2006. The porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). V: Pig diseases, 8th edition, St Edmundsbury Press Ltd, Suffolk, UK: 60-68
- Toplak I., Rihtarič D., Hostnik P., Grom J., Štukelj M., Valenčak Z. 2012. 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*, 179: 51–56
- Valenčak Z. 2004. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Slovenia: Evaluation of serology. *Slo. Vet. Res.*, 41: 99–101
- Zimmerman J., Benfield D.A., Murtaugh M.P., Osorio F., Stevenson G.W., Torremorell M. 2006. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). V: Diseases of Swine, 9th edition, Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire S., Taylor D.J., Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USD: 387-417