

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ФАКУЛТЕТ ВЕТЕРИНАРСКЕ МЕДИЦИНЕ

Илија Б. Јовановић

**МОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ И МОЛЕКУЛАРНА
ИДЕНТИФИКАЦИЈА УЗРОЧНИКА РЕСПИРАТОРНИХ
ИНФЕКЦИЈА СВИЊА У РАЗЛИЧИТИМ ПРОИЗВОДНИМ
КАТЕГОРИЈАМА И НА ЛИНИЈИ КЛАЊА**

Докторска дисертација

Београд, 2026

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Ilija B. Jovanović

**MORPHOLOGICAL CHANGES AND MOLECULAR
IDENTIFICATION OF THE CAUSATIVE AGENTS OF
RESPIRATORY INFECTIONS IN PIGS FROM DIFFERENT
PRODUCTION CATEGORIES AND AT THE SLAUGHTER LINE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026

Ментори:

Др Ивана Вучићевић, ванредни професор
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

Др Милош Петровић, доцент
Универзитет у Нишу, Пољопривредни факултет у Крушевцу

Чланови комисије:

Др Сања Алексић-Ковачевић, редовни професор
Универзитет у Београду, Факултет ветеринарске медицине

Др Јасна Проданов-Радуловић, научни саветник
Научни институт за ветеринарство „Нови Сад“

Др Марија Стојиљковић, научни сарадник
Ветеринарски специјалистички институт „Ниш“

Датум одбране: _____

МОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ И МОЛЕКУЛАРНА ИДЕНТИФИКАЦИЈА УЗРОЧНИКА РЕСПИРАТОРНИХ ИНФЕКЦИЈА СВИЊА У РАЗЛИЧИТИМ ПРОИЗВОДНИМ КАТЕГОРИЈАМА И НА ЛИНИЈИ КЛАЊА

Кратак садржај

Комплекс респираторних болести свиња (PRDC) представља један од најзначајнијих здравствених и економских проблема у интензивној свињарској производњи. Његова појава условљена је истовременим или узастопним деловањем вирусних и бактеријских агенаса, фактора средине, услова држања и технолошких стресора. Циљ истраживања у овој дисертацији био је да се код свиња различитих производних категорија утврде карактер, учесталост и дистрибуција морфолошких промена на респираторним и припадајућим лимфоидним органима, уз истовремено утврђивање присуства и заступљености најзначајнијих респираторних патогена укључених у PRDC, као и анализирање њихове повезаности са установљеним патоморфолошким променама на испитиваним органима. Поред класичне патоморфолошке анализе, циљ истраживања био је и да се имунохистохемијским испитивањима CD3 и CD21 ћелија додатно сагледа локални имунски одговор у респираторним органима свиња.

Испитивањем су обухваћене укупно 182 јединке пореклом са комерцијалне фарме свиња затвореног типа са технологијом производње од прашења до това. Из производних фаза прасади на сиси (50 јединки), одгоја (50 јединки) и предтова (30 јединки) испитивања су вршена на уинулим животињама, док су товљеници (52 јединке) прегледани на линији клања. Код уинуле прасади узорковани су плућа, душник, тонзиле и трахеобронхални лимфни чворови, док су код товљеника на линији клања узорковани плућа, душник и трахеобронхални лимфни чворови. Макроскопским прегледом процењивани су локализација, распрострањеност и карактер промена. За хистопатолошко испитивање узорци су фиксирани у формалину, обрађени стандардном хистолошком техником, бојени хематоксилин-еозин методом и анализирали светлосном микроскопијом. На одабраном броју узорака (укупно 44) извршена је молекуларна детекција генома PRRSV1, SIV, PCV2 и *M. hyopneumoniae*. Молекуларна детекција PRRSV1 и SIV извршена је *real-time* RT-PCR методама, док су PCV2 и *M. hyopneumoniae* детектовани *real-time* PCR методама. На одабраним узорцима плућа и душника имунохистохемијским методама је испитивана експресија CD3 и CD21 маркера, док је интензитет имуноекспресије процењен семиквантитативном методом. Добијени резултати статистички су обрађени ради процене разлика између производних категорија и испитивања повезаности између морфолошких промена и резултата молекуларних и имунохистохемијских испитивања.

Макроскопске промене на плућима установљене су код 122 од 182 испитане јединке (67,0%). Код прасади на сиси најчешће су уочене интерстицијална пнеумонија (22,0%) и хиперемија плућа (22,0%), а затим хиперемија и едем плућа (14,0%). У категорији одгоја приближно подједнако су биле заступљене гнојна (22,0%) и фибринозна бронхопнеумонија (24,0%), док је у предтову доминирала интерстицијална пнеумонија (40,0%). Насупрот томе, код 82,7% товљеника на линији клања нису установљене видљиве промене на плућима. Хистопатолошке промене на плућима утврђене су код 114 од 182 испитане јединке (62,6%). Код прасади на сиси најчешће су установљени наглашен плућни интерстицијум са бронхиолитисом и перибронхиолитисом (24,0%) и интерстицијална пнеумонија (20,0%). У одгоју је најзаступљенија била бронхоинтерстицијална пнеумонија (22,0%), док су у предтову наглашен плућни интерстицијум са бронхиолитисом и перибронхиолитисом и интерстицијална пнеумонија установљени код по 26,7% јединки. Код товљеника су наглашен плућни интерстицијум, бронхиолитис и перибронхиолитис установљени код 5 од 52 јединке (9,6%), док је интерстицијална пнеумонија утврђена код 3 од 52 јединке (5,8%). Хистопатолошке промене на душнику утврђене су код 63 од 182 испитане јединке (34,6%), а најчешћи налаз био

је катарални десквамативни трахеитис (43/182; 23,6%), који је био најзаступљенији у одгоју (38,0%) и предтову (36,7%). На тонзилама су промене установљене код 67 од 130 испитаних јединки (51,5%), при чему је доминирао тонзилитис (29/130; 22,3%), најчешће у одгоју (28,0%) и код прасади на сиси (24,0%). На трахеобронхалним лимфним чворовима промене су утврђене код 114 од 182 испитане јединке (62,6%), а најзаступљенији је био реактивни лимфаденитис (62/182; 34,1%), са највећом учесталошћу у предтову (63,3%), код прасади на сиси (44,0%) и у одгоју (40,0%).

Молекуларним испитивањем 44 одабрана узорка утврђено је присуство генома *M. hyopneumoniae* код 38,6% узорака (17/44), PCV2 код 47,7% (21/44) и PRRSV1 код 15,9% (7/44). Геном SIV није детектован ни у једном испитаном узорку. Учесталост PCV2 и PRRSV1 статистички се значајно разликовала између производних категорија. PCV2 је најчешће детектован у предтову, код 90,9% узорака (10/11), затим код прасади на сиси и у тову, код по 36,4% узорака (4/11), док је у одгоју утврђен код 27,3% узорака (3/11). *M. hyopneumoniae* је такође најчешће детектована у предтову, код 54,5% узорака (6/11), затим у одгоју и тову, код по 45,5% узорака (5/11), а код прасади на сиси код 9,1% узорака (1/11). PRRSV1 је био најзаступљенији у одгоју, где је доказан код 45,5% узорака (5/11), док је код прасади на сиси и у предтову детектован код по 9,1% узорака (1/11). У категорији това PRRSV1 није детектован. Поред појединачних инфекција, установљене су коинфекције и мултипле инфекције. Категорија одгоја издвојила се као етиолошки најсложенија, због високе учесталости PRRSV1 и *M. hyopneumoniae*, присуства PCV2 и истовремене појаве више типова морфолошких промена. У предтову је доминирала инфекција PCV2, а коинфекција PCV2 и *M. hyopneumoniae* утврђена је код 45,5% узорака (5/11), уз истовремено присуство респираторних и лимфоидних лезија. Код клинички здравих товљеника на линији клања доказано је присуство PCV2 и *M. hyopneumoniae*, уз претежно благе интерстицијалне и бронхиоларне промене на плућима. Повезивањем молекуларног и патоморфолошког налаза установљено је да присуство појединачног агенса није увек било праћено специфичним типом лезије. Најтеже и морфолошки најсложеније промене уочене су код животиња са коинфекцијама и полиинфекцијама.

Имунохистохемијска реакција на CD3 антиген у плућима најчешће је била слабо позитивна (43,8%), док је у душнику доминирала умерено позитивна реакција (50,0%). Реакција на CD21 антиген у плућима најчешће је била јако позитивна (50,0%), а у душнику умерено позитивна (56,3%).

Резултати указују да комплекс респираторних болести свиња у условима интензивног узгоја није монотипски патолошки процес, већ мултиетиолошки и полимикробни синдром, чија је патогенеза одређена интеракцијама инфективних агенаса, локалног имунског одговора и услова производње. Комбинована примена макроскопских, хистопатолошких, молекуларних и имунохистохемијских метода омогућила је целовитије сагледавање респираторних инфекција свиња у различитим производним категоријама. Макроскопски преглед показао се корисним за откривање изражених лезија, хистопатолошка анализа за одређивање њиховог карактера и стадијума, молекуларне методе за идентификацију присутних агенаса, а имунохистохемија за процену локалног ћелијског и хуморалног имунског одговора. Повезивање ових налаза може пружити основу за прецизнију дијагностику, епизоотиолошки надзор и планирање мера контроле комплекса респираторних болести свиња у комерцијалним запатима.

Кључне речи: комплекс респираторних болести свиња (PRDC), макроскопске промене, микроскопске промене, молекуларна дијагностика, имунохистохемијска метода, PRRSV1, SIV, PCV2, *M. hyopneumoniae*

Научна област: Ветеринарска медицина

Ужа научна област: Патологија

УДК број:

MORPHOLOGICAL CHANGES AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF THE CAUSATIVE AGENTS OF RESPIRATORY INFECTIONS IN PIGS FROM DIFFERENT PRODUCTION CATEGORIES AND AT THE SLAUGHTER LINE

Abstract

Porcine respiratory disease complex (PRDC) is one of the most important health and economic problems in intensive pig production. Its occurrence results from the simultaneous or sequential action of viral and bacterial agents, environmental factors, housing conditions, and production-related stressors. The aim of this dissertation was to determine the nature, frequency, and distribution of morphological lesions in the respiratory and associated lymphoid organs of pigs from different production categories, while simultaneously establishing the presence and prevalence of the most important respiratory pathogens involved in PRDC and analysing their association with the pathomorphological lesions identified in the examined organs. In addition to conventional pathomorphological analysis, the study also aimed to further characterise the local immune response in the respiratory organs of pigs by immunohistochemical assessment of CD3 and CD21 positive cells.

A total of 182 pigs originating from a commercial farrow-to-finish farm were included in the study. Animals belonging to the suckling piglets (n=50), weaned pigs (n=50), and pre-fattening pigs (n=30) production categories were examined after animals died naturally, whereas fattening pigs (n=52) were examined at the slaughter line. In the dead pigs, samples of the lungs, trachea, tonsils, and tracheobronchial lymph nodes were collected, whereas samples of the lungs, trachea, and tracheobronchial lymph nodes were collected from finishing pigs at the slaughter line. Gross examination was used to assess the localisation, extent, and nature of the lesions. For histopathological examination, tissue samples were fixed in formalin, processed using standard histological procedures, stained with haematoxylin and eosin, and examined by light microscopy. Molecular detection of PRRSV1, SIV, PCV2, and *M. hyopneumoniae* genomes was performed on a selected set of 44 samples. PRRSV1 and SIV were detected using real-time RT-PCR assays, whereas PCV2 and *M. hyopneumoniae* were detected using real-time PCR assays. In selected lung and tracheal samples, the expression of CD3 and CD21 markers was assessed immunohistochemically, and the intensity of immunoreactivity was evaluated semiquantitatively. The results were statistically analysed to assess differences among production categories and to examine associations between morphological lesions and the molecular and immunohistochemical findings.

Gross lesions of the lungs were identified in 122 of the 182 examined pigs (67.0%). In suckling piglets, the most frequent findings were interstitial pneumonia (22.0%) and pulmonary hyperaemia (22.0%), followed by pulmonary hyperaemia and oedema (14.0%). In weaned pigs, suppurative (22.0%) and fibrinous bronchopneumonia (24.0%) occurred with similar frequency, whereas interstitial pneumonia predominated in pre-fattening pigs (40.0%). In contrast, no gross lesions of the lungs were observed in 82.7% of finishing pigs examined at the slaughter line. Histopathological lesions of the lungs were identified in 114 of the 182 examined pigs (62.6%). In suckling piglets, the predominant lesions were thickening of the pulmonary interstitium associated with bronchiolitis and peribronchiolitis (24.0%) and interstitial pneumonia (20.0%). In weaned pigs, bronchiointerstitial pneumonia was the most prevalent lesion (22.0%), whereas in pre-fattening pigs, thickening of the pulmonary interstitium associated with bronchiolitis and peribronchiolitis and interstitial pneumonia were each identified in 26.7% of the examined animals. In finishing pigs, thickening of the pulmonary interstitium associated with bronchiolitis and peribronchiolitis was identified in 5 of 52 animals (9.6%), whereas interstitial pneumonia was diagnosed in 3 of 52 animals (5.8%). Histopathological lesions of the trachea were identified in 63 of the 182 examined pigs (34.6%), with catarrhal desquamative tracheitis representing the most frequent finding (43/182; 23.6%), occurring most commonly in weaned (38.0%) and pre-fattening pigs (36.7%). Tonsillar lesions were detected in 67 of the 130 examined pigs (51.5%), with tonsillitis being the predominant lesion (29/130; 22.3%), most frequently observed in weaned pigs (28.0%) and suckling piglets (24.0%). Lesions of the

tracheobronchial lymph nodes were identified in 114 of the 182 examined pigs (62.6%), with reactive lymphadenitis being the most prevalent finding (62/182; 34.1%), occurring most frequently in pre-fattening pigs (63.3%), followed by suckling piglets (44.0%) and weaned pigs (40.0%).

Molecular analysis of 44 selected samples revealed the presence of *M. hyopneumoniae* genome in 38.6% (17/44), PCV2 in 47.7% (21/44), and PRRSV1 in 15.9% (7/44) of the examined samples. The SIV genome was not detected in any of the analysed samples. The prevalence of PCV2 and PRRSV1 differed significantly among the production categories. PCV2 was detected most frequently in pre-fattening pigs (90.9%; 10/11), followed by suckling piglets and fattening pigs (36.4%; 4/11 each), whereas the lowest prevalence was recorded in weaned pigs (27.3%; 3/11). *M. hyopneumoniae* was also detected most frequently in pre-fattening pigs (54.5%; 6/11), followed by weaned pigs and fattening pigs (45.5%; 5/11 each), and suckling piglets (9.1%; 1/11). PRRSV1 was most prevalent in weaned pigs, where it was detected in 45.5% of the samples (5/11), whereas in suckling piglets and pre-fattening pigs it was detected in 9.1% of the samples (1/11 each). PRRSV1 was not detected in fattening pigs. In addition to single infections, coinfections and multiple infections were also identified. Weaned pigs represented the the production category with the greatest etiological complexity, characterised by a high prevalence of PRRSV1 and *M. hyopneumoniae*, the presence of PCV2, and the concurrent occurrence of multiple types of morphological lesions. In pre-fattening pigs, PCV2 was the most frequently detected pathogen, while coinfection with PCV2 and *M. hyopneumoniae* was identified in 45.5% of the samples (5/11), accompanied by concurrent respiratory and lymphoid lesions. In clinically healthy fattening pigs examined at the slaughter line, PCV2 and *M. hyopneumoniae* were detected despite the presence of predominantly mild interstitial and bronchiolar pulmonary lesions. Correlation of the molecular and pathomorphological findings demonstrated that the presence of an individual pathogen was not consistently associated with a specific type of lesion. The most severe and morphologically most complex lesions were observed in animals with coinfections and multiple infections.

Immunohistochemical staining for CD3 was most frequently weakly positive in the lungs (43.8%), whereas a moderate positive reaction predominated in the trachea (50.0%). Immunohistochemical staining for CD21 was most frequently strongly positive in the lungs (50.0%), whereas a moderate positive reaction predominated in the trachea (56.3%).

The results indicate that porcine respiratory disease complex (PRDC) under intensive production conditions is not a uniform pathological process but rather a multifactorial and polymicrobial syndrome, the pathogenesis of which is determined by the interactions among infectious agents, the local immune response, and production-related factors. The combined application of gross pathological, histopathological, molecular, and immunohistochemical methods provided a more comprehensive understanding of respiratory infections in pigs across different production categories. Gross examination proved useful for detecting prominent lesions, histopathological analysis for determining their nature and stage, molecular methods for identifying the causative agents, and immunohistochemistry for evaluating the local cellular and humoral immune response. Integration of these findings may provide a basis for more accurate diagnosis, epizootiological surveillance, and the development of effective control strategies for porcine respiratory disease complex in commercial pig herds.

Keywords: porcine respiratory disease complex (PRDC), gross lesions, histopathological lesions, molecular diagnostics, immunohistochemistry, PRRSV1, SIV, PCV2, *Mycoplasma hyopneumoniae*

Major Field of Study: Veterinary Medicine

Special Field of Study: Pathology

UDK Number:

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	3
2.1. Утицај интензивног узгоја на здравље свиња	3
2.2. Респираторне инфекције свиња у интензивном узгоју	4
2.2.1. Ринитис	5
2.2.2. Пнеумоније	6
2.2.2.1. Макроскопске карактеристике пнеумонија	6
2.2.2.2. Микроскопске карактеристике пнеумонија	7
2.2.3. Плеуритис	9
2.3. Значај прегледа и процене патолошких промена респираторних органа свиња на линији клања	9
2.4. Ензоотска пнеумонија свиња	11
2.4.1. Епизоотиологија	11
2.4.2. Патогенеза и клиничка слика	12
2.4.3. Патоморфолошке промене	13
2.4.4. Дијагностика и контрола	14
2.5. Репродуктивни и респираторни синдром свиња	15
2.5.1. Епизоотиологија	16
2.5.2. Патогенеза и клиничка слика	17
2.5.3. Патоморфолошке промене	18
2.5.4. Дијагностика и контрола	18
2.6. Цирковирусне инфекције свиња	19
2.6.1. Епизоотиологија	20
2.6.2. Патогенеза и клиничка слика	20
2.6.3. Патоморфолошке промене	22
2.6.4. Дијагностика и контрола	23
2.7. Инфлуенца свиња	24
2.7.1. Епизоотиологија	25
2.7.2. Патогенеза и клиничка слика	26
2.7.3. Патоморфолошке промене	28
2.7.4. Дијагностика и контрола	29
3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА	31
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	33
4.1. Материјал	33
4.1.1. Биолошки материјал	33
4.1.1.1. Место узорковања – карактеристике фарме	33
4.1.1.2. Узорци са фарме	33
4.1.1.3. Узорци са линије клања	34
4.1.1.4. Укупан број узорака	34
4.1.2. Опрема коришћена у истраживању	34
4.1.2.1. Опрема за хистолошку обраду узорака ткива	34
4.1.2.2. Опрема за хистопатолошку анализу узорака ткива	34
4.1.2.3. Опрема за молекуларну детекцију узрочника	34
4.1.2.4. Опрема за имунохистохемијска испитивања	35
4.1.3. Дијагностикуми и реагенси	35
4.1.3.1. Дијагностикуми и реагенси за хистолошку обраду узорака ткива	35
4.1.3.2. Дијагностикуми и реагенси за молекуларну детекцију узрочника	35
4.1.3.3. Дијагностикуми и реагенси за имунохистохемијска испитивања	35
4.2. Методе	36
4.2.1. Макроскопска анализа узорака	36
4.2.2. Хистолошка обрада узорака ткива	37
4.2.3. Хистопатолошка анализа узорака ткива	37
4.2.4. Методе молекуларне детекције узрочника	39
4.2.4.1. Припрема узорака за екстракцију нуклеинских киселина	39
4.2.4.2. Екстракција нуклеинских киселина	39

4.2.4.3.	Детекција генома вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV-1), вируса инфлуенце свиња (SIV), цирковируса свиња тип 2 (PCV2) и M. hyopneumoniae	40
4.2.4.3.1.	Real-time RT-PCR протокол за детекцију генома PRRSV-1	40
4.2.4.3.2.	Real-time RT-PCR протокол за детекцију генома SIV	41
4.2.4.3.3.	Real-time PCR протокол за детекцију генома PCV2	42
4.2.4.3.4.	Real-time PCR протокол за детекцију генома M. hyopneumoniae	43
4.2.5.	Имунохистохемијска метода	44
4.2.5.1.	Семиквантитативна анализа	45
4.2.6.	Статистичка обрада података	46
5.	РЕЗУЛТАТИ	47
5.1.	Резултати макроскопских испитивања	47
5.1.1.	Резултати макроскопских испитивања плућа	47
5.1.2.	Резултати макроскопских испитивања душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова	50
5.1.3.	Статистичка анализа установљених макроскопских промена	53
5.2.	Резултати микроскопских испитивања	54
5.2.1.	Резултати микроскопских испитивања плућа	54
5.2.2.	Резултати микроскопских испитивања душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова	58
5.2.3.	Статистичка анализа установљених микроскопских промена	61
5.3.	Молекуларна идентификација одабраних узрочника респираторних инфекција свиња	63
5.3.1.	Учесталост детекције узрочника у различитим производним категоријама	63
5.3.2.	Однос узрочника и установљених патоморфолошких промена на органима	64
5.4.	Имунохистохемијски налаз	66
5.4.1.	Експресија CD3 антигена	67
5.4.2.	Експресија CD21 антигена	68
6.	ДИСКУСИЈА	69
7.	ЗАКЉУЧЦИ	82
8.	ЛИТЕРАТУРА	84
9.	БИОГРАФИЈА	103

1. УВОД

У врло сложеним условима интензивног узгоја свиња, у великом броју земаља широм света, респираторне болести представљају један од најзначајнијих здравствених проблема и узрокују велике економске губитке у овој грани сточарске производње. Велике економске штете се испољавају у виду директних губитака због угинућа и принудног клања свиња, смањеног дневног прираста, продуженог времена това и трошкова лечења, што смањује и рентабилност производње.

У настајању респираторних болести свиња у интензивном узгоју учествује велики број етиолошких чинилаца, од којих инфективни агенси имају водећу улогу. Ови узрочници код пријемчивих јединки изазивају различите поремећаје у респираторном систему у оквиру комплекса респираторних болести свиња (*Porcine respiratory disease complex*, PRDC). Наведеним називом изражава се комплексност обољења насталог деловањем инфективних агенаса и фактора средине.

Комплекс респираторних болести свиња у Европи испољава се у форми респираторног синдрома и синдрома слабљења прасади у касном периоду одгоја и периоду раног това. Повећана учесталост појављивања болести респираторног комплекса је главна одлика епизоотиолошке ситуације и у другим деловима света. Услови држања, који често подразумевају већи број јединки на малом простору и неадекватне амбијенталне услове, доприносе ширењу болести међу јединкама.

Респираторне болести свиња најчешће настају као последица мешане инфекције (полиинфекције) или суперинфекције.

Као примарни узрочници респираторних болести свиња наводе се вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња (*Porcine reproductive and respiratory syndrome virus*, PRRSV), вирус инфлуенце свиња (*Swine influenza virus*, SIV), цирковирус свиња тип 2 (*Porcine circovirus type 2*, PCV2), *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyopneumoniae*), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*A. pleuropneumoniae*), *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*), а у неким случајевима и вирус Аujeszкијеве болести (односно вирус псеудобеснила, *Pseudorabies virus*, PRV), и респираторни корона вирус свиња (*Porcine respiratory coronavirus*, PRCV). Од секундарних узрочника најзначајнији су *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *Glaesserella* (раније *Haemophilus*) *parasuis* (*G. parasuis*), *Streptococcus suis* (*S. suis*), *Actinobacillus suis* (*A. suis*), *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*, раније *Arcanobacterium pyogenes*) и *Salmonella choleraesuis*. Многи од респираторних патогена могу се појавити као самостални узрочници или чешће, међусобно удружени, што може зависити и од технолошко-производне групе, односно категорије свиња. Интеракција патогена је веома комплексна и сваки од њих самостално, у синергизму или конкуренцији изазива одређену манифестацију болести из респираторног комплекса. Поред инфективних агенаса, придаје се посебан значај предиспонирајућим факторима, као што су транспорт, неадекватна температура амбијента и остали микроклиматски услови који нису у складу са захтевима дате категорије, дефицитарна исхрана, пренасељеност у објектима и учестало деловање бројних других стресних фактора. Производни системи који не укључују увек спровођење мере „све унутра све напоље“ (*all-in/all-out*), а обухватају јединке пореклом са различитих локалитета, као и увођење младих приплодних категорија без интерног дијагностичког протокола и последично формирање група различитог имунског статуса, омогућавају континуирано кружење инфекције унутар запата. Томе свакако треба додати и чињеницу да наше фарме најчешће услед притиска технолошког процеса производње нису увек у могућности да спроведу одмор објекта у прописаној дужини, што отежава смањење инфективног притиска и прекидање преношења узрочника између узастопних производних група.

Упркос постојању савремених програма имунофилаксе, као узрочници респираторних болести свиња на комерцијалним фармама у Србији и даље се могу доказати *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*, SIV и други. Један од разлога за овакву ситуацију је чињеница да се на

комерцијалним фармама у Србији врло често не спроводи имунофилакса против већине бактеријских и вирусних агенаса који су препознати као важни респираторни патогени.

Све наведено значајно је допринело да су последњих година забележени учестали здравствени проблеми у различитим производним категоријама свиња на комерцијалним фармама у Србији, укључујући и честу појаву PRDC-а.

У оквиру комплекса респираторних болести свиња, инфективни агенси код пријемчивих јединки изазивају различите промене на органима респираторног система. Патоморфолошка испитивања узорака плућа угинулих свиња из различитих производних категорија пореклом из бројних земаља са индустријском (интензивном) свињарском производњом, указују на присуство лезија, док се узрочници идентификују молекуларним испитивањима. Испитивања на комерцијалним фармама свиња са подручја Војводине и централне Србије указују на сличну здравствену, односно епизоотиолошку ситуацију. С друге стране, нема доступних публикација о присуству респираторних болести код свиња на комерцијалним фармама индустријског типа на југу Србије. Сазнања из ове области могла би да допринесу унапређењу програма контроле и дијагностике.

С обзиром да код значајног броја јединки респираторне инфекције протичу субклинички, неопходно је обратити пажњу на присуство лезија на плућима свиња на линији клања. Добијени резултати ових испитивања могу послужити као основ за праћење наведених промена код свиња на линији клања, које потичу из објеката са потврђеним присуством патогених узрочника респираторних инфекција. Неопходно је утврдити учесталост присуства и карактер промена на респираторним органима свиња са линије клања јер се све чешће указује на корелацију између присуства лезија на плућима и слабијег квалитета меса пореклом од тих свиња.

Анализа карактера и дистрибуције морфолошких промена, као и изучавање експресије и дистрибуције инфламаторног инфилтрата у ткиву респираторних органа и припадајућих лимфних чворова свиња различитих производних категорија и товљеника на линији клања, а затим и молекуларно-генетичка испитивања у циљу идентификације узрочника, представљају основни предмет испитивања у овој дисертацији.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Утицај интензивног узгоја на здравље свиња

Узгој свиња представља важан допринос глобалној производњи хране, нарочито у Азији, а свињско месо учествује са око 30% у укупној светској потрошњи меса (FAO, 2023). Европска унија (ЕУ) је други највећи произвођач свињског меса у свету, као и највећи извозник свињског меса и производа од свињетине (Jimenez Ruiz и сар. 2023). Узгој свиња се спроводи у веома различитим условима, како у погледу система држања, тако и у погледу величине фарми.

Интензиван узгој свиња карактерише се великом густином јединки у контролисаним условима и ограниченом простору. Предности интензивног узгоја свиња су значајно повећање продуктивности производње, повећање рандмана меса и скраћење производног циклуса уз минималан простор, утрошену храну и рад по јединки (Maes и сар., 2020).

У интензивној, индустријској свињарској производњи, где се животиње држе у великим агломератима и ограниченом, најчешће затвореном простору, може доћи до удруженог деловања бројних фактора који негативно утичу на здравље и добробит животиња (Bojkovski и сар., 2025). Стога, здравствена заштита у интензивном узгоју обухвата популацију у целом запату као основну епизоотиолошку јединицу, јер лако долази до хоризонталне и вертикалне трансмисије инфекција, а одређени микроорганизми услед интензивног производног циклуса и начина држања доводе до појаве такозваних технолошких болести (Bojkovski и сар., 2024).

Током последњих деценија, пораст величине легла и побољшање производних перформанси товљеника нису праћени побољшањем здравственог статуса свиња (Tani и сар., 2018). Многи запати свиња широм света ензоотски су инфицирани значајним респираторним и интестиналним патогенима, као што су PRRSV, PCV2, *M. hyopneumoniae*, SIV, патогени сојеви *Escherichia coli* (*E. coli*), *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira* spp. и *Streptococcus* spp. (Holtkamp и сар., 2025).

Није само присуство или преваленција патогена оно што је важно, већ и природа болести коју они изазивају, а која у великој мери може зависити од услова, односно интензитета производње. На пример, PRRSV и SIV су два главна патогена за која су епизоотиологија и клинички ток инфекције повезани са типом производње. Губици проузроковани PRRS-ом нарочито су значајни на великим фармама, док се појава нових подтипова инфлуенце вируса поклапа са интензификацијом производње (Van Reeth и Vincent, 2019). Интензивна производња често подразумева и учесталу примену антимикробних лекова, што додатно повећава ризик од појаве и ширења антимикробне резистенције.

Лезије на плућима, узроковане пнеумонијом и плеуропнеумонијом, уобичајено се идентификују код свиња на линији клања, са преваленцијом у распону од 10% до 50% (Meuns и сар., 2011; Merialdi и сар., 2012). Ови подаци су упоредиви са подацима од пре више деценија (Christensen и Cullinane, 1990). Поред тога, дијареја је и даље честа појава у запатима свиња (Weber и сар., 2015), упркос честој употреби антимикробних лекова (Sarrazin и сар., 2019).

Различити фактори утичу на повећану преваленцију најчешћих болести свиња у интензивном узгоју. Најпре у обзир треба узети велики број извора инфекције и различите путеве преношења (нпр. вертикално са крмаче на потомство, хоризонтално између различитих категорија свиња у оквиру производних фаза, преко семена нерастова, аерогено, али и индиректно путем контакта са особљем на фарми, као и контактом са популацијом глодара, инсеката и птица које се могу наћи на фарми), затим велику густину насељености у оквиру производних фаза која олакшава пренос патогена, као и потенцијално увећање нивоа стреса код јединки који је у корелацији са интензификацијом производње (Filippitzi и сар., 2018).

Скорија истраживања спроведена на комерцијалним фармама свиња у Републици Србији указују на присуство следећих обољења: неонатална колибацилоза, едемска болест, некротични ентеритис, инфекција цирковиром, спирохетални колитис, ентерохеморагични синдром, дизентерија и комплекс респираторних обољења (Bojkovski и сар., 2025). Масовна појава и присуство комплекса респираторних болести свиња представља озбиљан здравствени

проблем у свим технолошким фазама производње. Комплекс респираторних болести свиња представља инфекцију плућног ткива са више респираторних патогена. Изаоловани патогени варирају између и унутар производних категорија (Savić и сар., 2010). Респираторне болести свиња настају уколико су инфективни агенси присутни у непосредном окружењу свиња или ако, услед неког узрока, дође до слабљења одбрамбеног механизма респираторног система.

2.2. Респираторне инфекције свиња у интензивном узгоју

Респираторне болести су један од главних узрока производних губитака у интензивној свињарској производњи на глобалном нивоу, а PRDC представља примарни извор тих губитака (Opriessing и сар., 2011). Комплекс респираторних болести свиња је мултифакторијална болест која настаје интеракцијом бактеријских и вирусних патогена, а ређе и паразита, при чему на њен развој утичу и фактори средине, менаџмент на фарми, као и биолошке специфичности у вези са самом јединком (Sarli и сар., 2021).

Код PRDC-а се у различитим међусобним интеракцијама и комбинацијама могу открити бројни вирусни и бактеријски агенси, што доводи до настанка комплексне полимикробне инфекције (Fablet и сар., 2012). Узрочници респираторних болести свиња могу деловати и као примарни и као секундарни патогени. Почетак респираторне болести у запатима свиња обично је повезан са примарном вирусном инфекцијом, која омогућава развој секундарне бактеријске инфекције (Opriessing и сар., 2011).

Бројни примарни вирусни патогени, као што су PRRSV, PCV2, SIV, PRV и PRCV, ензоотски су присутни на фармама свиња (Yaeger и сар., 2019; Saade и сар., 2020). Међутим, вирусни патогени повезани са респираторним болестима свиња, значајно варирају између фарми, производних категорија, региона и земаља, што отежава генерализацију (Qin и сар., 2018). Иако могу изазвати и теже облике болести, самосталне вирусне респираторне инфекције су чешће благе и пролазне (Yaeger и сар., 2019).

Са друге стране, иако многи потенцијално патогени бактеријски агенси колонизују носну шупљину или тонзиле свиња, одбрамбени механизми респираторног система спречавају њихову дисеминацију и оштећење плућа. На основу способности да оштете епител горњих дисајних путева, оштете плућни паренхим и омогуће секундарну бактеријску колонизацију, примарни вирусни патогени значајно утичу на развој и исход PRDC-а (Qin и сар., 2018).

Неки бактеријски агенси, попут *M. hyopneumoniae* и *P. multocida* (Hansen и сар., 2010), *S. suis* (Saade и сар., 2020; Obradovic и сар., 2021) и *A. pleuropneumoniae* (Pomorska-Mol и сар., 2017), могу деловати и као примарни и као секундарни патогени, у зависности од ситуације. Тек када се примарне инфекције компликују секундарним бактеријским инфекцијама, долази до тежих и хроничних облика респираторних болести, које проузрокују највеће економске губитке (Sarli и сар., 2021).

Прецизна идентификација примарног вирусног или бактеријског узрочника, одговорног за настанак и развој респираторног обољења често представља значајан дијагностички изазов. Постављање дијагнозе на основу клиничке слике има својих ограничења због следећих разлога: 1) клиничка слика болести коју изазива вирус често се маскира ефектом истовремених или секундарних бактеријских инфекција; 2) клинички знаци се преклапају код различитих вируса који захватају респираторни систем, а разлике могу бити суптилне, непостојане или мање уочљиве него ефекти секундарних бактеријских инфекција (Janke, 1995).

Сложеност интеракција између различитих патогена отежава проучавање PRDC-а, његову превенцију, контролу и идентификацију етиолошког агенса одговорног за респираторну болест (Sunaga и сар., 2020). Респираторне болести код свиња најчешће укључују ринитис, пнеумонију и плеуритис, који могу настати повезано или независно (Yaeger и сар., 2019).

У Србији, индустријски системи производње свиња „од прашења до това“ (*farrow-to-finish*) одликују се присуством различитих предиспонирајућих фактора који значајно утичу на појаву респираторних болести (Savić и сар., 2015). На комерцијалним фармама типа „од прашења до

това“ постоји више могућности за интеракцију између патогена, услова средине и менаџмента на фарми (Prodanov-Radulović и сар., 2017).

И данас, упркос примени савремених вакцина против најзначајнијих узрочника респираторних болести свиња (на пример *M. hyopneumoniae*, PCV2, PRRSV) и свим напорима који се улажу у унапређење технолошког система производње у свињарству, ситуација постаје још сложенија (Petrović и сар., 2011; Novosel и сар., 2016; Postma и сар., 2016). Познато је да различити инфективни агенси могу бити унети у запат свиња након куповине латентно инфицираних животиња са друге фарме, са различитим здравственим статусом, што може довести до појаве нових жаришта инфективних болести (Dewulf и Immerseel, 2018). Резултати истраживања више случајева респираторних болести свиња у Србији указују да је набавка приплодног материјала са различитим или непознатим здравственим статусом представљала најважнији пут трансмисије и ширења инфекције на друге фарме или у друге регионе земље (Prodanov-Radulović и сар., 2015).

Интензивирање производње свиња повећава инциденцију и економски значај респираторних болести упркос примењеним мерама за њихово сузбијање и искорењивање (Prodanov-Radulović и сар., 2015; Dewulf и Immerseel, 2018).

2.2.1. Ринитис

Ринитис, односно запаљење носне слузнице, веома је чест код прасади, а најважнији клинички симптоми су учестало кијање и окулоназални исцедак који може бити катаралног или гнојног карактера (Yaeger и Alstine, 2019). Код свиња су позната два главна типа ринитиса: непрогресивни атрофични ринитис (*nonprogressive atrophic rhinitis*, NPAR) и прогресивни атрофични ринитис (*progressive atrophic rhinitis*, PAR). Патолошке промене код непрогресивног атрофичног ринитиса су благе и пролазне, док дуготрајнији и тежи облици прогресивног атрофичног ринитиса доводе до увијања (у случају асиметричне атрофије носних шупљина) или скраћења (у случају билатералних лезија) рила (Caswell и Williams, 2015).

Попречни пресек рила на нивоу првог или другог горњег преткутњака омогућава процену атрофије носних шкољки код прогресивног атрофичног ринитиса, који обично најпре захвата вентралне, а потом и дорзалне носне шкољке. Хистолошки, прогресивни атрофични ринитис карактеришу хиперплазија остеокласта и ресорпција кости посредована остеокластима, праћене заменом коштаног ткива фиброзним ткивом (Caswell и Williams, 2015).

Етиологија непрогресивног атрофичног ринитиса обухвата вирусе (*Porcine cytomegalovirus*, SIV, PRV), бактерије (*B. bronchiseptica*) и факторе средине (високе концентрације амонијака, прашина) (Yaeger и Alstine, 2019), док етиологија прогресивног атрофичног ринитиса подразумева синергистичко дејство инфекције *B. bronchiseptica*, праћене деловањем термолабилног токсина који производе сојеви А и D бактерије *P. multocida* (Magyar и сар., 2013).

С обзиром на то да су макроскопске лезије код непрогресивног атрофичног ринитиса и прогресивног атрофичног ринитиса квалитативно сличне, иако су код непрогресивног углавном благе, идентификација *B. bronchiseptica* и токсигених сојева *P. multocida* је неопходна за одређивање типа атрофичног ринитиса (Caswell и Williams, 2015). Оба типа атрофичног ринитиса представљају предиспонирајући фактор за појаву пнеумоније (Sarli и сар., 2021).

Постоји још један облик ринитиса код свиња познат под називом инклузиони ринитис (*inclusion body rhinitis*), изазван цитомегаловирусом. Хистопатолошки преглед је веома користан у дијагностици овог облика ринитиса који се одликује запаљењем, базофилним инклузијама у једру повезаним са кариомегалијом и цитомегалијом у епителним ћелијама жлезда носне слузнице (Caswell и Williams, 2015).

2.2.2. Пнеумоније

2.2.2.1. Макроскопске карактеристике пнеумонија

Патоморфолошке промене које настају код респираторних инфекција су карактеристичне и зависе од врсте инфективне ноксе, као и од путева којима она доспева у плућа. Најчешћи пут настајања инфекције је аерогени, тако да узрочници преко бронхијалног стабла доспевају у плућа, у којима се најпре шире ендобронхијално, а потом секундарно преко лимфних путева у перибронхијалне просторе. Узрочници могу да доспеју у ткиво плућа и хематогено, нарочито током септикемичних стања. Прво се населе у интералвеоларни, односно перибронхијални простор. У погледу ширења узрочника и настанка инфекције аерогено, постоје и другачија гледишта. Сматра се да носни секрет, као инфективни материјал, може да доспе у усну дупљу и тако омогући да се узрочници најпре населе у тонзилама и фарингеалној слузници, а одатле доспеју у респираторне путеве. Имајући у виду две могућности настанка инфекције, аерогено и хематогено, као последица тога могу да настану и два основна облика пнеумоније, бронхопнеумонија и интерстицијална пнеумонија (Aleksić-Kovačević, 2019).

Аерогена инфекција плућа најчешће захвата и горње и доње дисајне путеве, уз инфламацију алвеола, док се екстрапулмоналне промене ограничене искључиво на дисајне путеве ретко пријављују. Szeredi и сар. (2015) описују акутни едем и хеморагију душника праћене фибринонекротичним трахеитисом, без детектованих патогена или придружене плућне патологије, и спекулишу о патогенетском механизму сличном оном који се јавља код *Honker* синдрома говеда.

Аерогене инфекције плућа најчешће проузрокују краниовентралну локализацију лезија, која се може видети код ензоотске пнеумоније свиња (*enzootic pneumonia*, EP) и бронхопнеумоније. Узрочници су респираторни вируси (нпр. PRV, SIV) и *M. hyopneumoniae*, који су често удружени са секундарним бактеријским агенсима. Макроскопске карактеристике аерогених пнеумонија, укључују: варијације у конзистенцији (од консолидованог ткива у акутним стадијумима до фиброзе у хроничним стадијумима), варијације у боји (од тамноцрвене у консолидованим подручјима до беличасте у хроничним лезијама), присуство инфламаторног едема (у акутној фази) и фиброзно задебљање перилобуларног везивног ткива (у хроничној фази), варијације у присуству ексудата у дисајним путевима (од оскудног и густог катаралног ексудата (код EP изазване *M. hyopneumoniae*) до накупине гноја у компликованој EP и бронхопнеумонији), као и могуће присуство беличастих задебљања зидова малих дисајних путева (нпр. код EP) (Sarli и сар., 2021).

Распоред лезија може бити лобуларан, при чему су захваћени појединачни или спојени консолидовани лобули, или лобаран, када је захваћен цео режањ — у акутним (нпр. фибринонекротизујућа пнеумонија изазвана *A. pleuropneumoniae*) или хроничним лезијама (прогресивно захватање целог режња код компликоване EP и бронхопнеумоније, са присуством и акутних и новијих лобуларних лезија измешаних са хроничним фиброзним или гнојним променама). Код EP су карактеристичне фисуре, тј. удубљења у паренхиму услед колабираних алвеола или интерлобуларног фиброзног задебљања (Caswell и Williams, 2015).

Постоје, међутим, и неки изузеци, као нпр. код пнеумоније изазване са *A. pleuropneumoniae*, који доспева у плућа аерогено, али бронхитис није типичних карактеристика. Лезије су локализоване у дорзалним деловима каудалних режњева плућа, а честе су и акутна фибриносупуративна, хеморагична и некротизујућа лобарна пнеумонија, са консолидованим плућним лобусима и фибринозним плеуритисом (Yaeger и Alstine, 2019).

Још један изузетак је пнеумонија изазвана вирусом инфлуенце свиња - инфекција настаје аерогеним путем, али се макроскопске лезије испољавају као жута консолидована зона у кранијалним режњевима, удружена са мултифокалном лобуларном консолидацијом каудалних режњева (Iowa State University, 2021).

У случају хематогених инфекција плућа, лезије ће примарно бити локализоване у дорзалним зонама каудалних режњева плућа, где је васкуларизација израженија. Хематогена инфекција

плућа се може испољити у форми емболичне и интерстицијалне пнеумоније (Aleksić-Kovačević, 2019).

Емболична пнеумонија настаје задржавањем септичних тромбоемболуса у плућима, који потичу из жаришта локализованих на другом месту у организму. Макроскопски, свеже процесе емболичних пнеумонија карактеришу насумично распоређена жаришта хиперемije и хеморагија или, у случају хроничних процеса, присуство апсцеса (Sarli и сар., 2021).

Интерстицијална пнеумонија настаје уношењем пнеумотропних или ендотелиотропних агенаса из примарних места репликације путем циркулације, као што је случај код инфекција PRRSV и PCV2, као и код септикемија узрокованих грам-негативним бактеријама. Макроскопски, интерстицијалне пнеумоније карактеришу плућа која не колабирају, чвршће су конзистенције са отисцима ребара на површини, неуједначеним лобуларним или дифузним распоредом промена и интерстицијалним едемом (Zimmerman и сар., 2006; Wagner и сар., 2010).

Током миграције ларви нематода родова *Metastrongylus* и *Ascaris* кроз плућа развија се интерстицијална пнеумонија услед оштећења алвеоларно-септалног ткива. Код инфестације паразитима рода *Metastrongylus*, одрасли облици паразитирају у малим бронхијама дорзалних плућних лобуса, где изазивају катарално-гнојни бронхитис, чијем развоју додатно доприносе и секундарне бактеријске компликације (Wallgren и Pettersson, 2022).

Аерогене и хематогене инфекције плућа могу бити праћене лезијама на другим органима, при чему су то најчешће пратећи лимфоидни органи (тонзиле и лимфни чворови) и трахеја (Janke, 1995).

Покушаји да се идентификовани вирусни и/или бактеријски патогени доведу у корелацију са макроскопским лезијама на плућима дали су значајне резултате, али се истовремено један исти узрочник може повезати са више типова лезија (Ruggeri и сар., 2020). На то може утицати истовремено присуство различитих вируса и/или бактерија у етиопатогенези болести (Ruggeri и сар., 2020).

2.2.2.2. Микроскопске карактеристике пнеумонија

Код респираторних инфекција свиња, хистопатолошки преглед узорак ткива респираторних и пратећих лимфоидних органа у неким случајевима омогућава уочавање карактеристичних морфолошких промена које изазива одређени патоген и представља значајну подршку у дијагностици болести (Gupta и сар., 2009).

Вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња, *G. parasuis* и *Streptococcus spp.* код залучене прасади, као и PRRSV, *P. multocida* и *Streptococcus spp.* код товљеника, често су идентификовани у плућима без макроскопски видљивих лезија (Ruggeri и сар., 2020). Ово наглашава значај повезивања патогена са лезијама које он изазива.

Хистопатолошке промене понекад могу усмерити ток даљег испитивања на одређеног узрочника. Испуњеност алвеола едемском течностју и макрофагима, као и присуство слузи у ваздушним путевима са пратећом перибронхијалном лимфоцитном инфилтрацијом, често указују да се ради о некомплицованој ензоотској пнеумонији, док додатно присуство неутрофилних гранулоцита и фибрина у алвеолама упућују на бактеријску компликацију патолошког процеса (Caswell и Williams, 2015).

Некроза епитела дисајних путева, са ћелијским детритусом и леукоцитима који испуњавају лумен, и бронхоинтерстицијална пнеумонија представљају типичне хистолошке промене код инфекције вирусом инфлуенце свиња (Dea и сар., 1992; Caswell и Williams, 2015). Некротичне промене се могу уочити и код инфекције респираторним коронавирусом свиња, када су ограничене на мале и терминалне бронхиоле (Janke, 1995), такође и код инфекције цирковирусом типа 2 (Caswell и Williams, 2015).

Фибринозна пнеумонија са доминантним присуством неутрофилних гранулоцита и акумулацијом фибрина у алвеолама, удружена са тромбозом крвних судова и некрозом васкуларног зида, често уз истовремено присуство фибринозно хеморагичног плеуритиса,

веома често упућују на перакутну или акутну инфекцију коју изазива *A. pleuropneumoniae*. У овим случајевима, изолација и идентификација етиолошког агенса су неопходни, јер исте хистопатолошке промене могу бити присутне и код инфекције коју изазива *A. suis*, *Salmonella spp.* и *P. multocida* (Yaeger и сар., 2019).

Интерстицијалне пнеумоније, које се карактеришу различитим степеном задебљања алвеоларних септи, најчешће прате вирусне респираторне инфекције. На основу морфолошких карактеристика, значајно се разликује налаз код акутног и хроничног тока интерстицијалне пнеумоније. Код акутне интерстицијалне пнеумоније долази до оштећења крвно-ваздушне баријере и изласка протеина плазме у алвеоларне просторе. Понекад се протеини плазме мешају са сурфактантом формирајући микроскопски видљиву, танку еозинофилну мембрану, познату под називом хијалина мембрана. Ово представља ексудативну фазу акутне интерстицијалне пнеумоније. Након неколико дана следи пролиферативна фаза болести, која се одликује хиперплазијом пнеумоцита типа II и њиховим умножавањем на месту десквамираних пнеумоцита типа I. Због тога настаје тзв. епителизација, односно фетализација плућа, која се одликује смањеним луменом алвеола и задебљалим алвеоларним зидовима. Услед тога се и мења конзистенција плућа, при чему она добијају гумаст, односно меснат изглед. Када дуже траје експозиција узрочницима акутне интерстицијалне пнеумоније, може се развити хронична интерстицијална пнеумонија, која се одликује акумулацијом моноклеарних ћелија у интерстицијуму плућа, присуством хиперпластичних пнеумоцита типа II у алвеолама и фиброзом. У неким случајевима код интерстицијалне пнеумоније, при микроскопском прегледу налазе се у интерстицијуму поља глаткомишићних ћелија, а уочава се и хиперплазија перибронхијалног лимфатичног ткива (Caswell и Williams, 2015; Aleksić-Kovačević, 2019; Sarli и сар., 2021).

Интерстицијална пнеумонија код инфекције вирусом PRRS-а карактерише се хиперплазијом пнеумоцита типа II и интраалвеоларном акумулацијом макрофага. Често је удружена са израженим ринитисом (Janke, 1995).

Код обољења изазваних цирковиром свиња (*Porcine Circovirus Associated Diseases*, PCVAD), лезије у плућима су описане како код системског облика (*Porcine Circovirus Systemic Disease*, PCVD-SD), тако и код плућног облика (*Porcine Circovirus Lung Disease*, PCVD-LD), међутим, када се уоче макроскопске лезије на плућима, најчешће је реч о системском облику болести (Tico и сар., 2013).

Вирус лажног беснила (*Morbus Aujeszky*) обично не изазива препознатљиве микроскопске лезије у плућима старијих свиња, међутим, код мањег броја млађих јединки, могу бити присутне фокалне некрозе паренхима. Васкулитис, фокална церебрална глиоза и неспецифични менингитис представљају честе хистолошке промене у мозгу, које могу бити праћене и израженим ринитисом (Janke, 1995).

Акумулација макрофага и некротичног детритуса у алвеолама, удружена са хиперплазијом пнеумоцита типа II и задебљањем алвеоларних септи услед инфилтрације инфламаторним ћелијама је хистопатолошки налаз који се у литератури описује као пролиферативна некротизујућа пнеумонија (Caswell и Williams, 2015). Овакав микроскопски налаз је карактеристичан за удружено деловање PRRSV и PCV2, али и код удруженог деловања PRV и SIV (Grau-Roma и Segales, 2007; Morandi и сар., 2010).

Како се код свиња најчешће ради о мешовитој инфекцији (полиинфекцији), оба облика пнеумоније, бронхопнеумонија и интерстицијална пнеумонија, могу да се развијају упоредо или могу да настану један из другог. При томе, интерстицијална пнеумонија може претходити бронхопнеумонији, али оба облика често коегзистирају или се надовезују један на други. Интензитет патоморфолошких промена у плућима варира у зависности од етиолошког агенса. Исте промене могу да изазову и различити узрочници, односно етиолошки јединствен процес може да прође кроз различите стадијуме морфолошких промена. Са друге стране, патоморфолошке промене могу битно да се разликују по степену развијености процеса и супстрата, а то је последица биолошких карактеристика узрочника, вирулентности и удруженог деловања (Šamanc и сар., 2009).

Високоспецифичне хистопатолошке методе, као што су имунохистохемија (*immunohistochemistry*, ИНС) или *in situ* хибридизација (*in situ hybridization*, ISH), омогућавају визуелизацију антигена или нуклеинских киселина инфективног агенса у узорку испитиваног ткива (Gupta и сар., 2009). Међутим, сензитивност ових метода за процену присуства патогена је нижа у односу на друге дијагностичке тестове, као што је нпр. реакција ланчане полимеразе (*polymerase chain reaction*, PCR). Акутне лезије се карактеришу значајно већом количином присутних патогена у поређењу са хроничним променама (Haines и West, 2005).

2.2.3. Плеуритис

Плеуритис може бити у вези са запаљењем плућа, као што је то случај код фибринозне пнеумоније коју узрокује *A. pleuropneumoniae*. Са друге стране, код свиња се плеуритис може развити и независно од пнеумоније, често удружен са другим серозитисима (перикардитис, перитонитис) и артритисом у оквиру системске болести, коју могу проузроковати *G. parasuis*, *S. suis*, *Mycoplasma hyorhinis* и врсте из рода *Actinobacillus* (Yaeger и Alstine, 2019).

Најчешћи облик плеуритиса код свиња је акутни серофibriнозни плеуритис, који се може развити у хронични фиброзни плеуритис, који се карактерише обимним присуством прираслица услед организације фибрина. Плеуритис је чест налаз код свиња на клању. Хронични фиброзни плеуритис је повезан са позитивним серолошким налазом на *A. pleuropneumoniae*, посебно када је захваћена дорзокаудална површина плеуре (Merialdi и сар., 2012).

2.3. Значај прегледа и процене патолошких промена респираторних органа свиња на линији клања

Преглед респираторних органа свиња на линији клања представља важан сегмент савремене ветеринарске дијагностике и здравствене контроле и надзора у интензивној свињарској производњи. У условима када значајан број респираторних инфекција протиче субклинички, макроскопска процена плућа и пратећих респираторних органа на кланици омогућава увид у стварно здравствено стање запата и представља један од најзначајнијих индикатора присуства комплекса респираторних болести свиња (PRDC). Meyns и сар. (2011) и Merialdi и сар. (2012) наводе да се лезије на плућима свиња на линији клања у Европи откривају у распону од 10% до 50%, при чему се најчешће ради о различитим облицима бронхопнеумонија, плеуритиса и интерстицијалних пнеумонија. Наведени аутори указују да респираторне инфекције остају значајан здравствени проблем чак и у запатима у којима клинички симптоми нису изражени. Сличне резултате наводе и Prodanov-Radulović и сар. (2020), који истичу да су у условима интензивне свињарске производње у Србији најчешће присутне управо хроничне и мешовите форме респираторних обољења, са доминацијом бронхопнеумонија, интерстицијалних пнеумонија и плеуритиса, што потврђује значај континуираног патоморфолошког мониторинга на линији клања.

Према Opriessnig и сар. (2011), PRDC представља мултифакторијално обољење које настаје интеракцијом вирусних и бактеријских патогена, фактора средине и услова држања, при чему значајан број инфекција има хроничан или субклинички ток. Управо због тога, процена лезија на линији клања има велики дијагностички и епизоотиолошки значај, јер омогућава идентификацију хронично инфицираних запата и праћење циркулације респираторних патогена у производњи. Sarli и сар. (2021) истичу да макроскопски налаз на плућима закланих свиња представља практичан и економичан метод процене здравственог статуса запата, посебно у великим комерцијалним системима производње. Значај оваквог приступа у условима домаће производње потврђују и Savić и сар. (2015), који су PCR методом у запатима свиња у Србији доказали присуство више респираторних патогена укључених у PRDC, при чему су најчешће утврђиване мешовите инфекције са PRRSV, PCV2 и *M. hyopneumoniae*.

Најчешће утврђиване промене на плућима свиња на линији клања су краниовентралне консолидације, интерстицијалне пнеумоније, фибринозни плеуритиси, које су најчешће повезане са инфекцијама узрокованим *M. hyopneumoniae*, PRRSV, PCV2, *P. multocida* и *A. pleuropneumoniae* (Caswell и Williams, 2015; Yaeger и Alstine, 2019). Ruggeri и сар. (2020) указују да се један исти патоген може повезати са различитим типовима макроскопских лезија, али и да различити патогени могу изазвати сличне морфолошке промене, што додатно наглашава значај систематског прегледа плућа и повезивања макроскопских налаза са лабораторијском дијагностиком. Prodanov-Radulović и сар. (2020) такође наглашавају да се у условима интензивне индустријске производње у Србији најчешће утврђују комбиноване морфолошке форме респираторних лезија, што одражава комплексну етиологију PRDC-а и честу коинфекцију више патогена у истом плућном паренхиму.

Поред здравственог значаја, процена плућних лезија на линији клања има и изражен производни и економски значај. Респираторне болести свиња доводе до смањеног дневног прираста, лошије конверзије хране, продуженог периода това и повећаног угинућа, што директно утиче на економску исплативост производње (Thacker, 2006; Dewulf и Immerseel, 2018). Последњих година посебна пажња посвећена је испитивању утицаја респираторних лезија на квалитет трупова и меса свиња. Karabasil и сар. (2017) утврдили су значајну повезаност између тежине плућних лезија и смањења квалитета трупова и меса код товљеника. Аутори су показали да су свиње са израженим плућним лезијама имале мању живу масу, мању масу трупа и мању меснатост, као и већу учесталост појаве бледог, меког и водњикавог (*Pale, Soft, Exudative, PSE*) и тамног, чврстог и сувог (*Dark, Firm, Dry, DFD*) меса. Поред тога, код свиња са тежим плућним лезијама утврђене су израженије интерстицијалне и хроничне инфламаторне промене праћене перибронхиоларном инфилтрацијом CD3+ Т лимфоцита, што је било у складу са могућим учешћем вирусних патогена. Ови резултати потврђују да респираторне болести немају само здравствени, већ и значајан технолошки и економски утицај на производњу свиња односно свињског меса.

Сличне резултате наводе и Ћобановић и сар. (2021), који су показали да присуство плућних лезија, без обзира на степен њихове изражености, доводи до промена биохемијских параметара, смањења производних перформанси и погоршања квалитета меса. Према овим ауторима, свиње са узнапредовалим плућним лезијама имале су значајно мању телесну масу и меснатост, уз већу учесталост DFD меса, док су блаже лезије биле чешће повезане са појавом PSE меса.

Савремени приступи процени респираторних лезија на линији клања све више укључују примену стандардизованих система бодовања (*scoring systems*), који омогућавају објективнију процену распрострањености и тежине промена. Marruchella и сар. (2019) истичу да системи за процену плеуритиса и пнеумонија на кланици имају велики значај у здравственом надзору запата свиња, процени ефикасности вакцинације и контроли PRDC-а.

Поред дијагностичког и производног значаја, преглед респираторних органа на линији клања има и значај у области добробити животиња и безбедности хране. Хроничне респираторне болести представљају показатељ дуготрајног нарушавања здравља и добробити свиња, док се истовремено присуство лезија на плућима све чешће доводи у везу са смањеним квалитетом меса и већим економским губицима у месној индустрији (Przyborowska-Zhalniarovich и сар., 2023), на основу чега се може закључити да преглед и процена патолошких промена респираторних органа свиња на линији клања представљају значајан дијагностички, епизоотиолошки и економски алат у савременој свињарској производњи. Систематско праћење лезија омогућава благовремено откривање латентних (субклиничких) инфекција, процену распрострањености PRDC-а, евалуацију програма контроле болести и процену утицаја респираторних инфекција на производне резултате и квалитет меса.

2.4. Ензоотска пнеумонија свиња

Примарни узрочник ензоотске пнеумоније је *M. hyopneumoniae*, истовремено и један од главних етиолошких агенаса укључених у PRDC (Thacker и Minion, 2012). Инфекције које изазива *M. hyopneumoniae* су најчешће хроничног тока, веома су распрострањене широм света и проузрокују значајне економске губитке у свињарској индустрији (Maes и сар., 2018). Губици се углавном односе на трошкове лечења и вакцинације, смањење производних перформанси и повећану смртност услед секундарних инфекција (Holst и сар., 2015).

Слично као и друге врсте рода *Mycoplasma*, тако и *M. hyopneumoniae* има мали геном, нема ћелијски зид и полиморфна је бактерија. Изолација ове бактерије је веома тешка због њеног спорог раста и могућности да буде надјачана другим врстама микоплазми присутним код свиња. Бактериолошка култивација се обично спроводи само када је потребно добити изолат, док се рутински у дијагностици не користи. Овај микроорганизам се примарно налази на површини слузнице трахеје, бронха и бронхиола (Blanchard и сар., 1992), где оштећењем цилија епитела нарушава мукоцилијарни клиренс, а додатно има способност и модулације имунског одговора у респираторном систему (Thacker и Minion, 2012). Иако саме по себи изазивају благо обољење, због својих имуномодулаторних особина значајно смањују одбрамбену способност респираторног система. Услед тога, *M. hyopneumoniae* предиспонира инфилтрирање пријемчивих животиња и другим респираторним патогенима, укључујући бактерије, паразите и вирусе (Maes и сар., 2018). Иако се *M. hyopneumoniae* може изоловати у свим производним фазама интензивног узгоја свиња, клиничка слика ензоотске пнеумоније се најчешће манифестује у производној фази одгоја и това (Fano и сар., 2007; Sibila и сар., 2007).

2.4.1. Епизоотиологија

До данас, домаће и дивље свиње представљају једине познате врсте код којих је утврђена инфекција са *M. hyopneumoniae*. Код свиња није утврђена јасна повезаност између старости и осетљивости на инфекцију, иако се клиничка слика најчешће испољава у производним фазама одгоја и това. Непосредан, директан контакт између инфицираних и пријемчивих свиња представља главни пут преношења *M. hyopneumoniae*. Прасад се при рођењу сматра слободном од *M. hyopneumoniae*, пошто интраутерина инфекција није доказана, а прва изложеност микроорганизму се јавља током периода лактације (Calsamiglia и Pi Joan, 2000; Nathues и сар., 2013a,b). Дужина периода лактације се сматра једним од фактора ризика за инфекцију прасади са *M. hyopneumoniae* пре залучења (Pieters и сар., 2014).

Инфекција прасади са *M. hyopneumoniae* у периоду након залучења има посебан значај на индустријским фармама, у којима се прасад пребацује у претходно припремљене објекте одгоја и това. Сматра се да иницијална инфекција и колонизација слузница са *M. hyopneumoniae* одређује каснију клиничку слику и тежину болести (Fano и сар., 2007; Sibila и сар., 2007), мада се морају узети у обзир и други фактори који утичу на испољавање болести. Утицај дужине трајања лактације на инфекцију прасади је потврђен успешном применом раног залучења прасади, у циљу добијања прасади слободне од *M. hyopneumoniae*, пореклом од позитивних крмача (Alexander и сар., 1980). Истраживања су показала да је пренос *M. hyopneumoniae* између прасади у истом боксу спор (Meunys и сар., 2004; Roos и сар., 2016), што подржава хипотезу да клиничка слика може бити резултат ране инфекције.

Крмаче и назимице у приплодним запатима се сматрају резервоаром инфекције са *M. hyopneumoniae* за цео производни систем од прашења до това. Претпоставља се да се *M. hyopneumoniae* преноси са крмача на назимице у порасту, које одржавају патоген у оквиру фарме и представљају главни извор инфекције за новорођену прасад (Calsamiglia и Pi Joan, 2000; Fano et сар., 2005). На тај начин се обезбеђује континуитет трансмисије патогена. Одржавању инфекције доприноси и заостала прасад у објектима (јединке које су заостале у порасту, ситнија прасад), уколико се помеша са новопристиглим јединкама непосредно након залучења. На тај начин се затвара круг ширења инфекције у угроженим запатима (Thacker,

1999). Са друге стране, инфекција са *M. hyopneumoniae* има дуг ток, који може трајати и до 240 дана (Pieters и сар., 2009), што додатно компликује процес трансмисије у приплодним запатима. Кључан аспект епизоотиологије *M. hyopneumoniae* је дуготрајна перзистенција патогена у организму пријемчивих свиња. Ипак, менаџмент на фарми којим се скраћује период лактације, може смањити ризик од трансмисије *M. hyopneumoniae* (Nathues и сар., 2013a,b; Pieters и сар., 2014; Vangroenweghe и сар., 2015). Стога, идентификација фактора ризика за трансмисију болести на фармама представља кључни елемент за контролу болести у каснијим фазама производње.

Додатни извор варијабилности у епизоотиологији *M. hyopneumoniae* представљају различити сојеви који циркулишу у теренским условима. Развој молекуларних метода које би омогућиле процену вируленције био би од великог значаја за прилагођавање стратегија контроле на нивоу фарме, као и за разумевање потенцијалне унакрсне заштите међу сојевима (Maes и сар., 2018). Вектори се не сматрају значајним у преносу *M. hyopneumoniae* код свиња, међутим, на ову тему је спроведено веома мало истраживања. Nathues и сар. (2012) наводе да радници на фармама свиња могу неколико сати носити бактерију у горњим респираторним путевима, што је утврђено PCR методом у брисевима слузнице носа. Ипак, потенцијал за пренос патогена у овим условима није испитиван.

На потенцијални пренос *M. hyopneumoniae* ваздушним путем сумња се већ деценијама. Cardona и сар. (2005) утврдили су да се овај микроорганизам може аерогено преносити на удаљеност од најмање 300 m, док су Otake и сар. (2010) показали да је ДНК *M. hyopneumoniae* детектована у узорцима ваздуха прикупљеним на удаљености до 9,2 km од инфициране фарме, а биолошким тестом потврђено је да су ти узорци садржали инфективан микроорганизам, што је доказано након инокулације свиња тим узорцима.

Географска распрострањеност ензоотске пнеумоније свиња се сматра глобалном. Преваленција је ниска у неким скандинавским земљама, а Швајцарска је слободна од инфекције након примене националног програма искорењивања (Stärk и сар., 2007). Специфични подаци о преваленцији по земљама нису доступни у литератури, јер се болест не налази на списку болести обавезних за пријављивање и не ограничава транспорт и промет (Maes и сар., 2018). Све наведене карактеристике указују да епизоотиологија *M. hyopneumoniae* зависи од интеракције између домаћина, патогена и услова држања, што има значајне импликације на примењене стратегије контроле.

2.4.2. Патогенеза и клиничка слика

Процес адхеренције узрочника на површини слузнице респираторних путева представља значајан механизам у патогенези болести. То је специфичан процес који се остварује преко „терминалних“ структура микоплазми и рецептора на површини ћелија домаћина (Raymond и сар., 2018). Везујући се за циље епителних ћелија респираторних путева, микоплазме у почетку проузрокују слепљивање циљја, а касније њихову атрофију. Услед губитка циљја, мукоцилијарни апарат губи способност да обавља своју функцију „чишћења“ респираторних путева (Taschi и сар., 2016).

Када микоплазме пријањају на површину ћелија, оне посредством метаболичких производа, од којих је најважнији водоник-пероксид (H_2O_2), оштећују ћелијску мембрану. Осим тога, пријањањем уз трепљасте епител, микоплазме се одупиру фагоцитној активности, а пошто се већ налазе између трепљи и тесно су повезане са ћелијском мембраном, заштићене су и од имунских механизма организма домаћина (Thacker и сар., 2000; Hames и сар., 2009). Смањењем функције мукоцилијарног апарата, *M. hyopneumoniae* значајно доприноси и развоју секундарних бактеријских инфекција.

Хистопатолошке промене у виду перибронхијалне и периваскуларне лимфоретикуларне хиперплазије указују и на улогу имунског система у развоју морфолошких промена у плућном ткиву. Стога се претпоставља да је слаб и закасneo одговор имунског система у акутној фази болести показатељ да је реч о имуномодулаторном ефекту *M. hyopneumoniae*, иако се до сада

мало зна о самом механизму имунске и запаљенске реакције коју изазива овај узрочник. У бројним истраживањима утврђено је да микоплазме подстичу деобу лимфоцита, односно да имају неспецифично стимулативно (митогено) дејство на лимфоците и да изазивају њихово масовно накупљање у перибронхијалном и периваскуларном простору (Messier и сар., 1991). Запаљенска реакција, праћена појачаном продукцијом проинфламаторних цитокина, има значајну улогу у развоју микоплазматских пнеумонија. Иако је инфламаторни одговор важан у контроли респираторних патогена, оштећење ткива у већој мери настаје као последица деловања самог домаћина, него као директан ефекат микроорганизма (Thacker и сар., 2000; Thanawongnuwech и сар., 2001). Такође је доказано да алвеоларни макрофаги инфицирани истовремено са *M. hyor pneumoniae* и *A. pleuropneumoniae* имају знатно смањену фагоцитну способност (Caruso и сар., 1990).

На основу клиничке слике може се претпоставити да се ради о бронхитису или бронхопнеумонији. Код бронхитиса се повремено јавља непродуктиван кашаљ, телесна температура је у оквиру физиолошких граница, а фреквенција дисања је нешто убрзана. После узнемиравања животиња и провоцираног устајања и кретања, фреквенција дисања се значајно повећава и веома споро враћа у физиолошке границе. Аускултацијом се констатује пооштрени везикуларни шум дисања, влажни и суви рохни. Код животиња са пнеумоничним променама на плућима, осим кашља, губитка апетита и смањења телесне кондиције, могу бити промењени и телесна температура, пулс и дисање. Аускултацијом се могу чути суви и влажни рохни, бронхијално дисање и двофазни инспирјум, као последица сужења или затварања лумена бронхија (Šamanc, 2009).

Инфекције изазване *M. hyor pneumoniae* клинички се карактеришу интермитентним, по интензитету варијабилним, сувим непродуктивним кашљем (Sibila и сар., 2009), који може да траје недељама или месецима. Када овакав тип кашља истовремено погађа велики број животиња различитог узраста, може се посумњати да су у патогенезу болести укључени и други узрочници, као што су SIV или PRRSV (Nathues и сар., 2012). У условима ендемске распрострањености, ток болести подразумева висок морбидитет, али низак леталитет. Када *M. hyor pneumoniae* продре први пут у пријемчиву популацију, болест може имати тежи ток, погађајући животиње свих узраста и узрокујући морбидитет и до 100% (Thacker и Minion, 2012). Уколико су укључени и други бактеријски и/или вирусни узрочници, или у случају лоших микроклиматских услова у објекту и повећаног присуства амонијака (Michiels и сар., 2015), клинички знаци могу бити израженији и укључивати отежано дисање, хипертермију, анорексију, летаргију, па чак и угинуће (Maes и сар., 1996). У некомплицованим случајевима, одређени број животиња може остати субклинички инфициран током неколико недеља (Fano и сар., 2005), без клинички манифестног кашља и без макроскопских промена на плућима на линији клања.

2.4.3. Патоморфолошке промене

Морфолошке промене се претежно налазе на вентралним деловима кранијалних и средњих режњева плућа, мада у мањој мери могу бити захваћени и предњи делови каудалних режњева. Промењени делови плућа садрже сиво обојена консолидована поља. Најистакнутија промена у области измењеног плућног ткива је ателектаза у виду увучених делова у односу на површину непромењеног плућног ткива. На пресеку, измењени делови плућа имају меснату, али не и тврду конзистенцију. У лумену респираторних путева постоји већа количина катаралног ексудата. Бронхијални и медијастинални лимфни чворови су често измењени и увећани (Ivetić и сар., 2000).

У случају секундарних бактеријских инфекција, плућа су тежа и чвршћа, са већим процентом ткива захваћеног променом и присуством сиво-белог мукопурулентног ексудата у дисајним путевима. У регресивним лезијама могу се уочити беличаста, чврста интерлобуларна задебљања изграђена од везивног ткива (ожиљци) (Thacker и Minion, 2012).

Приликом инфекције са *M. hyopneumoniae* не настају специфичне макроскопске промене, већ у обзир треба узети и друге патогене, као што су SIV или *P. multocida* (Sibila и сар., 2009). Бактерија *P. multocida* се сматра секундарним патогеном, који се јавља након инфекције са *M. hyopneumoniae*. Инфекције са *P. multocida* могу довести до развоја гнојне бронхопнеумоније, која се макроскопски манифестује као краниовентрална консолидација плућа (Register и сар., 2012).

Микроскопски, ензоотску пнеумонију свиња карактерише бронхоинтерстицијална пнеумонија (Maes и сар., 2018). Ране микроскопске лезије се карактеришу акумулацијом неутрофила у лумену, око ваздушних путева и у алвеолама. Како болест напредује, долази до периваскуларне, перибронхијалне и перибронхиоларне акумулације лимфоцита (Brockmeier и сар., 2002). У поодмаклој фази болести, број лимфоцита у периваскуларном и перибронхијалном простору се знатно повећава (Sibila и сар., 2007), као и број пехарастих ћелија, а долази и до хиперплазије субмукозних жлезда (Thacker и Minion, 2012).

У лумену алвеола налазе се веће количине ексудата који садржи велики број моно- и полиморфонуклеарних ћелија. После две до три недеље од почетка болести, око зидова бронхијалног стабла јасно су изражени прстенови хиперпластичног лимфоидног ткива. Истовремено, у лумену респираторних путева се налазе веће количине накупљеног ексудата, са доста десквamisаних епителних ћелија и полиморфонуклеарних крвних елемената. Од 20. до 40. дана јасно се уочава смањен интраалвеоларни простор и веома интензивна периваскуларна и перибронхијална пролиферација лимфоретикуларног ткива. То веома често узрокује мање или веће сужење лумена респираторних путева, а неретко и њихово потпуно затварање. У већ унапредовалим случајевима смањен је број полиморфонуклеарних ћелијских елемената, као што је знатно смањена и количина ексудата у лумену бронхиола и алвеола (Thacker и Minion, 2012).

У фази зацељивања лезија алвеоле су колабиране, присутан је емфизем, а лимфни чворови су често хиперпластични (Golinar и сар., 2006). При томе, треба нагласити да карактеристика насталих промена на плућима и њихов исход зависе од деловања секундарне бактеријске инфекције и осталих неспецифичних фактора чија улога није занемарљива.

Интензитет клиничких симптома и тежина лезија могу зависити од различитих фактора, као што су начин држања животиња, микроклиматски услови и сој *M. hyopneumoniae*. Информације о утицају варијабилности сојева на тежину плућних лезија, појаву и трајање клиничких знакова још увек нису потпуно дефинисане. Док неки аутори пријављују да коинфекција са више од једног соја доводи до тежих лезија (Villarreal и сар., 2009; Michiels и сар., 2017), други нису уочили такав појачавајући ефекат (Charlebois и сар., 2014). До данас, одсуство познатог маркера вируленције, заједно са коегзистенцијом различитих сојева на нивоу јединке и на нивоу фарме (Nathues и сар., 2011; Pantoja и сар., 2016; Vranckx и сар., 2012), онемогућавају прецизну процену утицаја одређеног соја на тежину клиничке слике и плућних лезија.

2.4.4. Дијагностика и контрола

Клиничка слика и патоморфолошке промене на плућима могу указивати на вероватну дијагнозу, али је за коначну потврду болести неопходно лабораторијско испитивање.

Изолација *M. hyopneumoniae* и даље остаје метода за потврду присуства узрочника, међутим, потреба за специфичним хранљивим подлогама, високи трошкови извођења методе, честа контаминација узорак другим бактеријама и ниска осетљивост методе представљају значајна ограничења овог приступа (Maes и сар., 2018).

Детекција *M. hyopneumoniae* у ткиву може се извршити применом више метода, укључујући ИНС (Opriessnig и сар., 2004), ISH (Boye и сар., 2001) и PCR (Dubosson и сар., 2005; Strait и сар., 2008). Методе ИНС и ISH омогућавају детекцију *M. hyopneumoniae* у циљном ткиву, али имају и своја ограничења.

Примена PCR методе омогућила је значајно повећање учесталости детекције *M. hyopneumoniae* у различитим типовима узорака, а данас је *real-time* PCR једна од најчешће коришћених метода за откривање овог узрочника (Dubosson и сар., 2005; Strait и сар., 2008). Ову методу карактерише висока специфичност и осетљивост.

Код свиња инфицираних *M. hyopneumoniae* могу се детектовати циркулишућа антитела (IgG). Антитела се могу установити неколико недеља након прве инфекције (Thacker и Minion, 2012) и могу бити резултат преноса са мајке на прасад (матернална антитела) (Bandrick и сар., 2008) или се могу детектовати као последица вакцинације (Maes и сар., 2008). Антитела против *M. hyopneumoniae* могу се детектовати ELISA тестовима (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) без обзира на њихово порекло (детектују се и вакцинална и антитела која су синтетисана као последица инфекције), што отежава интерпретацију резултата.

Постоји више препорука за превенцију ензоотске пнеумоније свиња. Међутим, суштина свих досадашњих програма подразумева систем узгоја и третман у којем се, што је више могуће, онемогућава одржавање узрочника у запатима свиња, као и његово преношење на најмлађе категорије. Поред медикаментозног лечења и уклањања свих могућих неспецифичних фактора, ставови у погледу имунопрофилактике су подељени (Maes и сар., 2018). У превенцији се користе различите вакцине, претежно инактивисане, док су живе атенуисане вакцине знатно ређе у примени. Вакцинацијом су постигнути добри резултати. Ипак, заштита коју вакцина обезбеђује није потпуна, јер комерцијалне вакцине не спречавају колонизацију. Број серопозитивних свиња постепено расте све до краја периода тога, што указује да *M. hyopneumoniae* може наставити да циркулише и код вакцинисаних животиња доводећи до инфекције (Baraldi и сар., 2019). Ниске биосигурносне мере и лош менаџмент на фарми представљају важне факторе који могу довести до секундарних инфекција другим патогенима, што додатно изазива економске губитке (Maes и сар., 2008; Maes и сар., 2018). У Србији је вакцинација против *M. hyopneumoniae* широко распрострањена (Prodanov-Radulović и сар., 2020). Вакцинација против *M. hyopneumoniae* уобичајена је и у Европи, изузев у неким земљама слободним од овог узрочника, као што је Швајцарска (Baraldi и сар., 2019). У запатима без имунитета, болест може захватити свиње свих производних категорија, укључујући како прасад на сиси тако и приплодне јединке (Sibila и сар., 2009).

2.5. Репродуктивни и респираторни синдром свиња

Крајем 1980-их година, на више фарми у Сједињеним Америчким Државама и Канади забележени су респираторни и репродуктивни поремећаји повезани са новом болешћу. Због непознатог узрочника, болест је добијала различита имена као што су „мистериозна болест свиња“ (*Mystery Swine Disease*, MSD) или „синдром неплодности и респираторних поремећаја свиња“ (*Swine Infertility and Respiratory Syndrome*, SIRS) (Keffaber, 1989; Hill, 1990). Тек 1991. године у Лелистаду (*Lelystad*, Холандија) изолован је вирус као узрочник ове болести (Wensvoort и сар., 1991), а већ следеће године у САД изолован је други сој истог вируса — VR-2332 (Collins и сар., 1992). Од тада, ова два соја се сматрају референтним сојевима за своје територије: Лелистад сој (LV) за Европу и VR-2332 сој за Северну Америку (Wensvoort и сар., 1991; Collins и сар., 1992). Убрзо након тога, током првог међународног симпозијума о SIRS-у, одржаног 1992. године у Минесоти, болест је званично добила своје садашње име — репродуктивни и респираторни синдром свиња, а узрочник назив PRRS вирус, једноланчани РНК вирус са омотачем (Meredith, 1992).

Након секвенцирања, установљено је да референтни сојеви LV и VR-2332 деле само 55–70% нуклеотидних секвенци (Collins и сар., 1992; Murtaugh и сар., 1995). Овај налаз, уз огромну антигенску хетерогеност између ова два соја (Wensvoort и сар., 1992), довео је до раздвајања вируса на два различита генотипа: европски или генотип типа 1 (такође познат као PRRSV1) и амерички или генотип типа 2 (такође познат као PRRSV2). Додатно, анализа секвенци ORF5 и ORF7 омогућила је разликовање различитих подтипова или линија унутар оба генотипа — PRRSV1 и PRRSV2 (Stadejek и сар., 2006; Shi и сар., 2010). Током година, све веће генетичке

разлике довеле су до данашње класификације вируса у нови род *Betaarterivirus* (породица *Arteriviridae*, ред *Nidovirales*) као две различите вирусне врсте: *Betaarterivirus suid-1* (за PRRSV1; подрод *Eurpobartevirus*) и *Betaarterivirus suid-2* (за PRRSV2; подрод *Ampobartevirus*) (Brinton и сар., 2018).

2.5.1. Епизоотиологија

Репродуктивни и респираторни синдром свиња је једна од економски најзначајнијих болести која погађа свињарску индустрију на глобалном нивоу. У САД се процењује да ова болест узрокује губитке од око 664 милиона долара годишње у производњи приплодних и товних свиња (Neumann и сар., 2005; Holtkamp и сар., 2013). Различите студије из Кине указују на морбидитет и до 100% и морталитет већи од 40% код прасади инфициране PRRS вирусом (Han и сар., 2017; Zhou и сар., 2020; Guan и сар., 2023).

Инфекција у почетку може бити субклиничка, а присуство секундарних инфекција и коинфекција најчешће је повезано са развојем тежег клиничког облика болести. Најчешће се болест јавља удружено са PCV2, али су описане и коинфекције са *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchiseptica*, *M. hyopneumoniae*, *S. suis*, вирусом класичне куге свиња (*classical swine fever virus*, CSFV) и другим (Gomez-Laguna и сар., 2013; Guan и сар., 2023).

Непосредан (директан) контакт је најзначајнији начин преношења вируса. Инфекција је перорална, аерогена и коитална (укључујући и вештачко осемењавање). Свиње инфициране вирусом PRRS-а најчешће испољавају симптоме који укључују инапетенцу, повишену температуру, летаргију и отежано дисање. Значајни фактори који утичу на природу, ток и преваленцију болести су густина популације, квалитет вентилационих система на фарми, мешање различитих производних категорија, здравствени статус животиња, начин држања, количина и сој вируса који циркулише у групи животиња (Fablet и сар., 2012). Изолација PRRSV из ороназалних брисева вештачки инфицираних свиња у тову је могућа и до 157 дана по интраназалној инокулацији вируса, што указује на могућност постојања перзистентне инфекције (Wills и сар., 1997). Крмаче инфициране од 85. до 90. дана гравидитета могу опрасити перзистентно инфицирану прасад код које вирусна РНК може бити детектована и до 210 дана по рођењу (Benfield и сар., 1997). Код перзистентно инфициране прасади морталитет пре залучивања је висок и промене на респираторним органима су изражене, а у исто време таква прасад су и значајан извор дисеминације вируса и његове перзистенције на фарми. Тежи клинички симптоми и већи губици бележе се на фармама које не спровode карантин новонабављених животиња и тамо где су зоохигијенски услови неадекватни. Међутим, најизраженије дејство PRRSV испољава код млађих категорија прасади и супрасних крмача (Zimmerman и сар., 2012).

Према подацима Petrović и сар. (2011), први сумњиви случајеви PRRS-а у Србији регистровани су 2001. године, када су озбиљни респираторни поремећаји праћени високом смртношћу забележени код свиња на две комерцијалне фарме у северном делу земље, у близини граница са Хрватском и Мађарском. Постоји сумња да је до појаве болести дошло услед илегалног увоза семена нерастова из суседних земаља. Након тога, у периоду од 2001. до 2002. године, синдром респираторних поремећаја, праћен високим морбидитетом и умереним леталитетом, дијагностикован као PRRS, јавио се на више комерцијалних фарми у Војводини, а касније и у централном делу Србије (Petrović и сар., 2011; Novosel и сар., 2016). Добијени резултати у последњих 15 година указују да је инфекција вирусом PRRS-а широко распрострањена, потцењена и неконтролисана респираторна болест свиња у Србији (Prodanov-Radulović и сар., 2020). Упркос чињеници да је болест распрострањена на већини комерцијалних фарми свиња, у Србији не постоје законске процедуре за контролу PRRS-а (Prodanov-Radulović и сар., 2020). Контрола болести је тешка, нарочито у областима са великом концентрацијом фарми свиња (бројна породична газдинства, сеоска домаћинства), јер се вирус може преносити аеросолом и ветром између фарми (Došen и сар., 2012). Пошто постоји велики број сојева, а нови се

непрестано појављују, имунски одговор развијен након недавне инфекције често не обезбеђује потпуну заштиту од поновног уноса вируса и избијања болести (Montaner-Tarbes и сар., 2019).

2.5.2. Патогенеза и клиничка слика

Вирус узročник PRRS-а инфицира ћелије моноцитно-макрофагног система, укључујући макрофаге и дендритске ћелије. Алвеоларни макрофаги у плућима су примарна места репликације вируса, затим следе дендритске ћелије (Jiang и сар., 2024). Вирус улази у макрофаге преко CD163 рецептора, који има кључну улогу у инфекцији и патогенези (Whitworth и сар., 2016; Stoian и сар., 2022). Процес уласка PRRSV у макрофаге описан је као рН зависна, рецепторима посредована ендцитоза (Nauwynck и сар., 1999). Постоје три фазе инфекције: акутна, фаза перзистенције и елиминација вируса (Lunney и сар., 2016). Током прве фазе инфекције, PRRSV се најпре умножава у алвеоларним макрофагима плућа, након чега доспева у крвоток и изазива виремију, која се може развити већ 6–12 часова после инфекције и трајати неколико недеља. Након примарног умножавања PRRSV у алвеоларним макрофагима, вирусна репликација се одвија и у лимфним органима, посебно у тонзилама и лимфним чворовима, изазивајући хиперплазију (Wills и сар., 1997; Lemke и сар., 2004). Елиминација вируса може трајати и до 250 дана после инфекције (Wills и сар., 2003), што значи да вирус може перзистирати током целог производног циклуса на фарми.

У фази перзистенције, вирус се може излучивати семеном нерастова, а инфекција се може ширити путем контаминираних сперме (Karniychuk и сар., 2013). Код супрасних крмача инфекција доводи до апоптозе у макрофагима и околним ћелијама на месту имплантације фетуса (Karniychuk и сар., 2011).

Вирус PRRS-а такође утиче и на имунски одговор, нарушавајући активност NK ћелија (*natural killer cells*, NK) и производњу IFN- α (*interferon alpha*, IFN- α) (Dwivedi и сар., 2012). Инфекција нарушава функцију алвеоларних макрофага, смањујући њихову способност фагоцитозе, секреције проинфламаторних цитокина и презентације антигена, што доводи до имуносупресије и повећане подложности коинфекцијама (Gomez-Laguna и сар., 2010; De Baere и сар., 2012; Ruedas-Torres и сар., 2024).

Оштећења плућних алвеоларних макрофага и интраваскуларних моноцита доводе до повећане осетљивости на бактеријске инфекције и развоја тешких пнеумонија и септикемије (Thanawongnuwech и сар., 2000).

Свиње инфициране са PRRSV најчешће испољавају симптоме који укључују инапетенцу, повишену температуру, летаргију и отежано дисање. Код супрасних крмача инфекција PRRSV може имати за последицу парцијално одљубљивање плаценте, што може довести до абортуса, превремених прашења, или до угинућа и мумификације фетуса *in utero*. Абортуси у позном гравидитету забележени су код 30% инфицираних крмача, при чему број мртворођене прасади достиже и 100% (Ruedas-Torres и сар., 2024).

Живорођена прасад инфицирана пренатално најчешће је слабовитална и показује тешке респираторне симптоме, при чему и до 80% утине у периоду пре залучења, па се често дешава да се залучи само једно прасе по леглу (Christianson и Joo, 1994; Pejsak и сар., 1997). Код младе прасади инфициране PRRSV постнатално често се јављају дијареја и тешки респираторни поремећаји, проузроковани оштећењима на плућима (Rodriguez-Gomez и сар., 2019).

Код прасади на сиси, инфекција се може пренети од инфицираних крмача путем млека (Wagstrom и сар., 2001). У овој старосној категорији инфекција може проузроковати угинуће чак 80% јединки. У каснијим фазама, степен морталитета се смањује, али се настављају економски губици проузроковани смањеним дневним прирастом и смањеном конверзијом хране (Moore, 1990; White, 1992).

Неколико дана од појаве високе температуре почиње кашаљ, а на кожи врата, ушију, леђа, перианалне регије и горњих делова задњих екстремитета појављују се црвенило и цијанотичне промене. Инфекција у средини гестационог периода може бити праћена абортусима, мумификацијом плодова, раном смрћу ембриона и последичним стерилитетом. Поуздан знак

инфекције код грла у репродукцији огледа се и кроз смањење броја опрашене прасади (мало легло) и нередовну појаву еструса (повађање), али и као пролазна анорексија и превремено праћење (Morgan и сар., 2016; Rodriguez-Gomez и сар., 2019; Ruedas-Torres и сар., 2024).

2.5.3. Патоморфолошке промене

Код угнутих животиња, патоморфолошке промене у респираторном тракту могу указати на болест, али код PRRS-а нема патогномичног налаза. Макроскопске промене на плућима свиња инфицираних PRRSV могу бити веома различите, јер их често компликују промене настале секундарном бактеријском инфекцијом. Сам PRRSV изазива промене које одговарају интерстицијалној пнеумонији праћеној увећањем лимфних чворова код свиња свих узраста (Zimmerman и сар., 2006; Carr и сар., 2018).

Експериментално изазване промене на плућима постају евидентне три дана по инокулацији вируса, а најинтензивније су од 7. до 10. дана, док код некомплицованих случајева промене изазване већином изолата вируса узročника PRRS-а регресирају од 14. до 28. дана. Код авиталне прасади која угине непосредно по рођењу може се наћи бистра течност у тораколној шупљини и консолидација плућа. Најевидентнија макроскопска промена је увећање лимфних чворова, почев од 10. дана по инокулацији вируса (Šamanc, 2009).

Плућа су обично сива са мрљастим подручјима и неколабирана, са израженим интерстицијалним едемом. У тежим случајевима, плућа постају црвена и едематозна, посебно кранијално-вентрални режјеви. Трахеобронхални и медијастинални лимфни чворови су увећани и могу бити чврсте конзистенције или имати цистично измењен изглед (Zimmerman и сар., 2006).

Микроскопске промене одговарају налазу код интерстицијалне пнеумоније и укључују задебљање интералвеоларних септи услед акумулације макрофага, лимфоцита и плазма ћелија и присуство некротичних ћелијских остатака са макрофагима у алвеоларним просторима. Приметна је и изражена хипертрофија и хиперплазија пнеумоцита типа II (Maxie, 2007). Такође се могу уочити и некроза и деплација герминативних центара, као и фоликуларна хиперплазија лимфних чворова (Zimmerman и сар., 2006; Wagner и сар., 2010). Лимфохистиоцитни енцефалитис, миокардитис и ринитис могу се јавити у појединим случајевима (Maxie, 2007).

2.5.4. Дијагностика и контрола

Најчешће примењивана метода за детекцију PRRSV је реакција ланчане полимеразе, било у семену, крви, бронхоалвеоларном испирку или хомогенатима ткива. Најчешће се користи RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-PCR) који циља ORF6 и ORF7 сегменте генома (Christopher-Hennings и сар., 2002). Henaо-Díaz и сар. (2020) развили су методу за детекцију генома PRRSV у крви применом PCR, као и серолошку методу за детекцију специфичних антитела применом ELISA теста. Геном PRRSV може се детектовати од трећег до 98. дана после инфекције, при чему се вероватноћа детекције са сваким наредним даном смањује за 2%. Специфична антитела се појављују око 14. дана после инфекције и трају до 175. дана (Henaо-Díaz и сар., 2020).

Упркос огромним напорима у последње три деценије да се разуме патогенеза PRRS-а, потпуно ефикасне вакцине и даље недостају (Prodanov-Radulović и сар., 2020). Најчешће се примењују вакцине са модификованим живим вирусом или инактивисане вакцине. Међутим, ниједна од њих до сада није показала потпуну ефикасност у спречавању ширења вируса. Атенуиране живе вакцине показују одложену али ефикасну заштиту против хомологних и неких хетерологних сојева PRRS вируса. Међутим, ограничено трајање имунитета и ограничена имуност вакцинисаних животиња према многим циркулишућим сојевима изазивају велике сумње у ефикасност вакцина (Zimmerman и сар., 2012; Pileri и сар., 2015; Jeong и сар., 2017).

Најсавременији приступи превенције PRRS инфекција свиња заснивају се на генетском инжењерингу и отварају велике могућности у погледу формирања запата свиња који би били

отпорни на инфекцију PRRS вирусом. Формирање оваквих запата и њихова дистрибуција у земљама са развијеном свињарском производњом имали би несагледиве користи, узимајући у обзир специфичну биологију самог узročника болести као и огроман економски значај за индустрију свињског меса широм света.

2.6. Цирковирусне инфекције свиња

Свињски цирковирус тип 2, са економског аспекта, један је од најзначајнијих узročника болести свиња. Веће интересовање за цирковирусне инфекције почело је након појаве системске болести повезане са PCV2 (*Porcine circovirus type 2 - systemic disease*, PCV2-SD), раније познате као синдром мултисистемског слабења прасади након залучења (*Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome*, PMWS), у Канади 1991. године, а ретроспективна истраживања су показала присуство PCV2 још крајем шездесетих година (Allan и сар., 1995). У групу цирковирусних болести, поред PCV2-SD, налазе се и поремећаји у репродукцији, дерматитис-нефропатски синдром (*Porcine Dermatitis Nephropathy Syndrome*, PDNS), као и респираторни и ентерични облик ове болести. Данас се ови патолошки ентитети једним именом називају цирковирусна оболења свиња (*Porcine Circovirus Associated Diseases*, PCVAD) (Segales, 2012). На основу нових сазнања о патологији ове болести предложена је нова терминологија, те су данас у ветеринарској пракси познати: субклинички облици цирковирусне инфекције, затим системско оболење изазвано PCV2 (PCVD-SD), респираторни облик болести (*Porcine Circovirus Lung Disease*, PCVD-LD), ентерични облик (*Porcine Circovirus Enteric Disease*, PCV-2-ED), све чешћи репродуктивни облик (*Porcine Circovirus Reproductive Disease*, PCV-2-RD) и дерматитис-нефропатски синдром (Segales, 2012; Ren и сар., 2016).

Извор инфекције су оболеле, али и субклинички инфициране животиње, док клиничка манифестација зависи од захваћеног органског система. Који ће систем бити захваћен, па самим тим и који ће се манифестни облик јавити, није могуће предвидети. Без обзира на манифестни облик, штете, како директне тако и индиректне, увек су веома значајне и угрожавају производњу свиња. У свему томе, PCV2-SD је економски најзначајнија болест. Утврђено је да директни и индиректни трошкови на нивоу године у Европској унији износе око 600 милиона евра (Armstrong и Bishop, 2004). У САД, ова болест је коштала произвођаче у просеку 3–4 долара по свињи, са максималним губицима у распону и до 20 долара (Gillespie и сар., 2009). Овај синдром, као један од облика цирковирусних инфекција, заступљен је у популацији свиња у Републици Србији и јавља се код свиња старих од 6 до 16 недеља (Ivetić и сар., 2004). Свињски цирковирус 2 припада фамилији *Circoviridae*. Фамилија *Circoviridae* има два рода: *Circovirus* и *Cyclovirus*. Геном цирковируса чини молекул циркуларне, једноланчане и позитивно оријентисане ДНК. Вируси из ове фамилије не поседују спољашњи омотач, сферичног су облика, а капсид је икосаедричне симетрије. Стабилни су у спољашњој средини тако да могу да издрже температуру од 60 °C током 30 минута. Добро подносе и различите вредности рН. Цирковируси се репликују у једру инфицираних ћелија које су у фази деобе (Quinn и сар., 2002). До сада су идентификоване четири врсте цирковируса свиња: PCV1, PCV2, PCV3 и PCV4. Међу њима, PCV2 је најзначајнији са аспекта патогености и повезан је са широким спектром клиничких симптома. До сада је описано девет генотипова PCV2 (PCV2a–PCV2i), при чему су PCV2a, PCV2b и PCV2d најзаступљенији у популацији свиња (Opriessnig и сар., 2007; Ouyang и сар., 2019; Feher и сар., 2023; Galindo-Barboza и сар., 2026). Од 1990-их година, PCV2 је препознат као патоген који изазива озбиљна оболења у свињарству (Grau-Roma и сар., 2011). До данас, различити генотипови PCV2 су идентификовани широм света. Први идентификовани генотипови су PCV2a и PCV2b, док је PCV2c први пут откривен 1980. године у Данској, а касније и у Бразилу и Кини. У Швајцарској је 1998. године први пут описан PCV2d и сматра се мутацијом PCV2b (Opriessnig и сар., 2013; Franzo и сар., 2018).

Након откривања цирковирусних инфекција 1974. године, серопреваленце су утврђене у Немачкој, Канади, Енглеској и САД. Како су ове студије објављене у раним 1990-им, остало је

непознато који је тип цирковируса био присутан. Ова почетна студија показала је да је PCV широко распрострањен у популацији свиња у испитиваним земљама. У касним 1990-им постали су доступни дијагностички тестови који диференцирају непатогене (PCV1) од патогених (PCV2) цирковируса, што је омогућило даљу карактеризацију PCV изолата (Finlaison и сар., 2007).

2.6.1. Епизоотиологија

Синдром мултисистемског слабљења прасади након залучења најчешће погађа прасад старости између 5 и 12 недеља (Vasava и сар., 2023), док се цирковирусна оболења свиња углавном јављају код прасади старости од 8 до 10 недеља, иако су описани случајеви и у старости од 7 до 28 недеља (Rodriguez-Arrioja и сар., 2002). Ретроспективне студије показују да је већина случајева PCVAD повезана са коинфекцијама другим патогенима – PCV3, PRRSV, парвовирусом свиња (*porcine parvovirus*, PPV), CSFV, SIV, *M. hyopneumoniae*, *T. pyogenes*, док је само 1% случајева повезано искључиво са PCV2 инфекцијом (Opriessnig и сар., 2012; Ouyang и сар., 2019).

Морбидитет код PCV2 моноинфекције креће се од 4 до 30%. Упоредо, коинфекције са PRRSV знатно повећавају и морбидитет и морталитет (Segales и Domingo, 2002; Ouyang и сар., 2019). Експерименталне коинфекције са PPV, PRRSV и *M. hyopneumoniae* значајно повећавају репликацију PCV2 (Rovira и сар., 2002; Opriessnig и сар., 2007). PCV2 погађа домаће и дивље свиње, изазивајући различите клиничке манифестације које се групишу под називом PCVAD (Segales, 2012).

Фактори који утичу на развој инфекције и њену распрострањеност укључују густину животиња, услове држања, програме вакцинације и биосигурносне мере (Rose и сар., 2012). Генетска варијабилност између сојева додатно компликује епизоотиолошку слику (Franzo и сар., 2018).

Ороназални пут се сматра највероватнијим и најчешћим путем преноса PCV2 инфекција. Ова тврдња доказана је великим бројем експерименталних студија о цирковирусним инфекцијама, које су углавном користиле интраназални пут инокулације овог вируса (Ellis и сар., 2000). Иако се ороназални пут сматра најчешћим, PCV2 се може пренети готово свим секретима и екскретима – тонзиларним, бронхијалним, очним секретом, као и фецесом, пљувачком, урином и спермом (Segales и сар., 2005). Пренос PCV2 најчешће се врши директним контактом – преко орофарингеалног, фекалног и уринарног пута (Maity и сар., 2023). Присуство PCV2 утврђено је и у колоструму (Shibata и сар., 2006), али да ли то може довести до инфекције и даље је непознато.

Осим тога, вирус се може пренети на прасад конзумирањем некуваних ткива вiremичних животиња (лимфатичних ткива, скелетних мишића и коштане сржи) 3 дана за редом, што резултира вiremијом и сероконверзијом код свих прасади (Opriessnig и сар., 2009).

Трансплацентарна инфекција доказана је након интраназалне инфекције супрасне крмаче 3 недеље пре прашења, при чему је PCV2 био присутан и код побачене и код живорођене прасади (Park и сар., 2005; На и сар., 2008). Вертикални пренос има значајну улогу у епизоотиологији PCV2, иако његов допринос одржавању инфекције у запатима још није у потпуности разјашњен (Segales и сар., 2026).

2.6.2. Патогенеза и клиничка слика

Цирковирус тип 2 најчешће инфицира ћелије моноцитно-макрофагне линије – моноците, макрофаге и дендритске ћелије у целом организму (Feher и сар., 2023). Cino-Ozuna и сар. (2011) су имунохистохемијском методом показали присуство PCV2 антигена у цитоплазми мононуклеарних ћелија у крвним судовима, као и у ендотелним ћелијама, што указује на могућа места активне репликације вируса.

Иако инфекција само са PCV2 обично не доводи до изражене клиничке слике, коинфекције са другим патогенима значајно доприносе настанку PCVAD (Trible и Rowland, 2011). Такође је доказано да PCV2 утиче на адаптивни имунски одговор, супримирајући продукцију цитокина као што су IFN- γ (*interferon gamma*, IFN- γ), IFN- α и IL-12 (*interleukin 12*, IL-12), док стимулише секрецију IL-10, што резултира лимфоцитном деплецијом у тимусу и слезини (Maity и сар., 2023; Feher и сар., 2023).

Лимфоцитна деплеција и лимфопенија у периферној крви представљају константан налаз код прасади са развијеном клиничком сликом PCVAD-a (Chianini и сар., 2001).

Механизам патогенезе PCV2 још увек није до краја разјашњен. Оронозална експозиција се сматра природним путем преноса PCV2 инфекције, иако се свиње могу експериментално инфицирати интрамускуларним, оралним, оронозалним и интраутериним путем инокулације (Madson и Opriessnig, 2011; Rose и сар., 2012; Segales, 2012). Цирковирус тип 2 има афинитет према лимфоидним ткивима код свиња (Opriessnig и сар., 2007), а вирус се излучује преко респираторних и оралних секрета, урина и фецеса инфицираних животиња.

Лимфоцитна деплеција и замена хистиоцитима у лимфоидним ткивима представљају карактеристичне лезије инфекције PCV2 (Opriessnig и сар., 2007; Segales, 2012). Инфекција коју изазива PCV2 и његова репликација у лимфоидним ткивима могу довести до разарања архитектуре лимфоидних фоликула, што резултира лимфоцитном деплецијом, након чега долази до замене ових структура хистиоцитним ћелијама (Opriessnig и сар., 2007; Segales, 2012). Стога, деструкција лимфоидних фоликула и леукопенија могу довести до имуносупресије код свиња (Ramamoorthy и Meng, 2009).

Утврђено је да је код инфицираних животиња лимфоцитна деплеција повезана са смањењем броја интерфоликуларних дендритских ћелија (*interfollicular dendritic cells*, IDC), В-лимфоцита, НК ћелија, $\gamma\delta$ Т-ћелија, као и CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцита, уз истовремено повећање броја моноцита и гранулоцита (Grierson и сар., 2007; Darwich и Mateu, 2012). Степен лимфоидне деплеције је у позитивној корелацији са количином PCV2 антигена детектованог у погођеним ткивима (Meng, 2013).

Репликација PCV2 је потврђена у ткивима бронхијалних и ингвиналних лимфних чворова, тонзила, плућа, јетре, бубрега, слезине и тимуса (Ramamoorthy и Meng, 2009; Darwich и Mateu, 2012). Поред директне репликације вируса и лизе инфицираних ћелија у лимфоидним ткивима, други индиректни, до сада непознати механизми могу такође бити одговорни за изражену лимфоидну деплецију код заражених свиња. Боље разумевање тачног механизма лимфоидне деплеције допринело би ефикаснијој контроли овог вируса у будућности (Meng, 2013).

Код системског обољења (PCVD-SD) морбидитет на погођеним фармама обично износи од 4% до 30%, а у појединим случајевима може достићи и 50–60%, док се морталитет креће у распону од 4% до 20% (Segales и Domingo, 2002). Клинички, PCVD-SD се карактерише следећим симптомима: исцрпљеношћу и губитком телесне масе, бледилом коже, отежаним дисањем, проливом и повремено појавом жутице (Ellis и сар., 2004). Повећање површинских лимфних чворова је чест налаз у раним фазама болести (Rosell и сар., 1999).

Главни клинички симптоми су отежано дисање код PCVD-LD (Harms и сар., 2002; Kim и сар., 2003), дијареја код PCVD-ED (Opriessnig и сар., 2007). Између PCVD-SD и ових облика болести постоји могуће дијагностичко преклапање, с обзиром на то да се респираторни симптоми и пролив могу јавити и као део клиничке слике системског обољења (Opriessnig и сар., 2007). Цирковирус тип 2 се сматра једним од најзначајнијих патогена који доприноси развоју комплекса респираторних болести свиња (Kim и сар., 2003; Hansen и сар., 2010).

Код репродуктивне форме болести може доћи до побачаја у позној гестацији и рађања мртве прасади (West и сар., 1999; Brunborg и сар., 2007), као и мумификације фетуса (Madson и сар., 2009), слично као и код парвовирусне инфекције свиња (Mengeling, 2006). Ипак, сматра се да се репродуктивна форма цирковирусног обољења ретко среће у теренским условима (Pensaert и сар., 2004).

Свиње оболеле од синдрома дерматитиса и нефропатије свиња клинички испољавају анорексију и депресију, обично без повишене телесне температуре или са веома благом

пирексијом (Drolet и сар., 1999). Животиње могу бити летаргичне, нерадо се крећу и/или показују укочен ход. Најупадљивији знак је присуство неправилних, црвенкасто-љубичастих макула и папула на кожи, најчешће у пределу задњих екстремитета и перинеума, мада могу бити и шире распрострањене. Како болест напредује, промене на кожи се прекривају тамним крастама. Ове лезије постепено бледе, а понекад остају ожиљци (Segales и сар., 1998; Drolet и сар., 1999). Синдром дерматитиса и нефропатије свиња погађа прасад у одгоју, тову, али и одрасле јединке (Drolet и сар., 1999). Преваленција синдрома је обично мања од 1% (Segales и сар., 1998), иако је у неким случајевима описана и већа учесталост (Gresham и сар., 2000). Морталитет може достићи и 100% код свиња старијих од 3 месеца, док код млађих приближно износи 50%. Тешко и акутно оболеле свиње угину у року од неколико дана након појаве клиничких знакова. Животиње које преживе, обично се опораве и почну да напредују у периоду од 7 до 10 дана након почетка болести (Segales и сар., 1998).

2.6.3. Патоморфолошке промене

Све клиничке манифестације болести повезане са свињским цирковирусом типа 2 погађају један или више органских система, при чему често долази до значајног преклапања патоморфолошких промена (Segales, 2012).

На секцији угинуле прасади најчешће се налазе лезије на плућима и повећање лимфних чворова (ингвиналних, субмандибуларних, мезентеричних и медијастиналних). Најчешће су захваћени површински ингвинални лимфни чворови, који на пресеку показују црвеносмеђу зону проткану сланинатим пољима. Поред ингвиналних, својом величином истичу се и мезентеријални лимфни чворови. Међутим, те лезије нису увек присутне, те не могу служити као маркери за PCVD-SD на фарми (Opriessnig и Langohr, 2012).

Карактеристичне микроскопске лезије могу се наћи у лимфним чворовима. То су јасно ограничене, сферичне, базофилне, цитоплазматске инклузије PCV2 у хистиоцитима (Ivetić и сар., 2004).

Некротични лимфаденитис се може наћи најмање у једном лимфном чвору код око 10% свиња оболелих од природно настале системске болести изазване PCV2 (PCVD-SD) (Segales и сар., 2004). Ова лезија је такође уочена и у експерименталним условима, при чему су свиње испољавале деплецију лимфоцита и грануломатозну инфламацију лимфних чворова (Opriessnig и сар., 2006a,b). Таква некроза може бити дифузна или локализована у фоликуларним зонама. У великом броју случајева PCV2 се налази у некротичним зонама (Segales, 2012). Додатне студије су показале да лимфни чворови захваћени овом врстом некрозе испољавају хипертрофију и хиперплазију ендотела венула, повећану експресију фон Вилебрандовог фактора, као и секундарну тромбозу (Galindo-Cardiel и сар., 2011), што највероватније представља основу за развој некротичног лимфаденитиса. Са друге стране, некротични лимфаденитис у вези са PCV2, описан је и у изолованим лимфним чворовима клинички здравих свиња, без присутне лимфоцитне деплеције и грануломатозне инфламације (Chae, 2005).

Код одређеног броја прасади примећују се некротичне промене на јетри са приметном дисколорацијом, при чему је евидентна и жутица. Такође се код исте прасади могу запазити мултифокалне беле тачке у кори бубрега. Мањи број прасади оболеле од PCVD-SD-а може имати бронхопнеумонију и улцерације на езофагеалној слузници које нису директно везане за цирковирусне, него више за секундарне инфекције. Ове лезије изазивају унутрашња крвављења која могу довести до угинућа прасади са PCVD-SD и одговорна су за бледило коже. При крају овог стадијума може се развити кахексија (Segales, 2012).

Код прасади оболеле од PDNS, микроскопским прегледом коже захваћене црвено-црним папулама и макулама уочавају се некротични васкулитис дермалних и хиподермалних капилара и артериола, праћен обимним хеморагијама. Некротични васкулитис је системски, јер лезије могу бити присутне у сваком ткиву, иако су најизраженије у кожи, бубрежној карлици, мезентеријуму и слезини. Осим промена на кожи, код свиња које угину од акутне

инфекције PDNS, бубрези су билатерално проширени са бројним кортикалним крвављењима и едемом бубрежне карлице (Segales и сар., 1998). Хистолошки се може уочити негнојни интерстицијални нефритис са дилатацијом бубрежних тубула. Најчешће су код свиња које болују од PDNS присутне лезије и на бубрезима и на кожи, али постоје и ретки случајеви када се поменуте лезије могу јавити самостално (Segales и сар., 1998). Свиње погођене PCV2 системском болешћу обично показују интерстицијални нефритис, који је описан као тубулоинтерстицијални лимфоплазмоцитни нефритис, интерстицијални грануломатозни нефритис или комбиновани тип (Sarli и сар., 2008).

Код респираторног облика цирковирусног обољења, лимфохистиоцитна до грануломатозна интерстицијална пнеумонија, перибронхијална фиброплазија, благи до тешки некротични улцеративни бронхиолитис или пролиферативна некротична пнеумонија уз одсуство лимфатичних лезија индикативни су за PCVD-LD. Микроскопске лезије у лимфоидном ткиву нису присутне код PCVD-LD, за разлику од PCVD-SD (Segales, 2012).

Срчана инсуфицијенција је описана као последица акутног некротичног или хроничног фиброзног миокардитиса, са хроничним васкулитисом у срцу, бубрезима и лимфоидним ткивима код прасади у фази одгоја. Антиген PCV2 је детектован у цитоплазми миоцита срчаног мишића, као и у васкуларним ендотелним ћелијама миокарда (Opriessnig и сар., 2006b).

Са друге стране, лимфохистиоцитни и плазмацитни васкулитис је такође описан код свиња експериментално инфицираних, као и оних са испољеном PCVD-SD инфекцијом (Langohr и сар., 2010). У целини, ови неуобичајени налази указују на то да кардиоваскуларни систем и ендотелне ћелије могу имати улогу у патогенези PCV2 инфекција.

Лезије на мозгу су веома ретка појава код PCVD-SD инфекције (Rosell и сар., 1999). Међутим, два независна истраживања описују лимфохистиоцитни васкулитис у мозгу, посебно у церебелуму, праћен хеморагијама и/или лимфохистиоцитним менингитисом код свиња природно инфицираних PCV2 (Correa и сар., 2007; Seeliger и сар., 2007). У оба случаја, макрофаги и ендотелне ћелије су били имунопозитивни на PCV2 антиген.

Обољење које се такође доводи у везу са инфекцијом PCV2 и означава се као акутни пулмонални едем (*acute pulmonary edema*, APE), карактерише нагомилавање бистре течности у грудној дупљи и изостанак колабирања плућа, уз умерен до тежак интерстицијални едем (Cipo-Ozuna и сар., 2011). Микроскопским прегледом плућа уочен је интерстицијални едем, са дифузном инфилтрацијом интерстицијума макрофагама и лимфоцитима, као и фибриноидна некроза зидова крвних судова и дифузна лимфоидна депледија. Ово обољење повезује лимфоидне лезије са васкуларним оштећењима, што га смешта у оквиру PCV2 системске болести (Langohr и сар., 2010), али са акутнијим клиничким током.

2.6.4. Дијагностика и контрола

Једна од најчешће коришћених техника за детекцију генома PCV2 је реакција ланчане полимеразе, а посебно *real-time* квантитативни PCR (qPCR). Предност qPCR-а је у томе што омогућава апсолутну квантификацију вирусне нуклеинске киселине, а количина PCV2 у ткивима је кључна за разликовање клиничких форми PCVD од субклиничке инфекције PCV2 (Segales и Sibila, 2022).

Дијагностика болести подразумева много више од саме детекције узрочника, што је посебно важно у случају када је тај агенс уобичајено присутан у популацији. Стога, примена qPCR методе у циљу постављања дијагнозе PCVD мора бити удружена са недвосмисленим чињеницама које карактеришу ово обољење. Конкретно, поклапање компатибилне клиничке слике са одговарајућим хистопатолошким лезијама недвосмислено указује на потенцијални PCVD. У том случају, примена qPCR методе служи као потврда PCVD, као што је то случај и са имунохистохемијом или *in situ* хибридизацијом (Segales и Sibila, 2022). У супротном, само qPCR тестирање, без изражене клиничке слике и карактеристичних хистопатолошких промена, треба се сматрати методом за праћење инфекције, а не за постављање дијагнозе (Aramouni и сар., 2011; Segales и Sibila, 2022). Са техничким напретком молекуларних метода као што су

аутоматизација, повећана брзина и нижи трошкови, постоји већа тенденција ка тестирању ткива на PCV2 методом PCR, уместо конвенционалним методама као што су ИНС или ISH (Opriessnig и Langohr, 2012).

Стратегије контроле цирковирусних обољења свиња углавном се заснивају на вакцинацији и адекватној дијагностици, као и на управљању болешћу на нивоу запата (Segales, 2012).

Пре него што су постале доступне комерцијалне вакцине, успешан третман и контрола болести изазваних PCV2 били су првенствено усмерени на обезбеђивање добре производне праксе која минимизира стрес, елиминише коинфекције или умањује њихов ефекат, као и на уклањање потенцијалних фактора који индукују стимулацију имунитета и напредовање инфекција изазваних са PCV2. И данас је познат тзв. Мадеков план од 20 тачака за контролу PCV2 инфекција, који се може сажети у четири златна правила, а она укључују ограничавање контакта између свиња, смањење стреса, добру хигијену и добру исхрану (Mades и сар., 1999). Једна од главних тачака Мадековог плана јесте минимизирање контакта између свиња, с обзиром на то да је директан контакт један од најчешћих путева ширења ове инфекције у запату. Препоручује се успостављање чврстих преграда између боксева, као и усвајање система „све унутра – све напоље“ (*all in, all out*) на фармама, у циљу смањења међусобног контакта између свиња. Карантин новонабављених свиња има за циљ да спречи уношење нових инфекција. Важан елемент у контроли PCV2 инфекција јесте и сузбијање појединих обољења, као што су PPV, PRRS, EP и SIV, јер ова стања појачавају озбиљност лезија изазваних PCV2.

2.7. Инфлуенца свиња

Инфлуенца свиња представља важно респираторно обољење свиња и распрострањена је широм света. Узрочник болести је инфлуенца вирус тип А (*Influenza A virus*, IAV), који припада породици *Orthomyxoviridae*. Заражене свиње испољавају клиничке знаке сличне онима код људи, због чега се сматрају добрим животињским моделом за истраживање грипа (Alexander и Brown, 2000).

Вирус инфлуенце А (IAV) представља главни узрочник акутних респираторних инфекција код свиња током целе године, и то код јединки свих узраста. У некомплицованим случајевима, болест има благу клиничку слику и кратак ток (Koster и сар., 2012). Слично као и код људи, инфлуенца код свиња се јавља током целе године, али показује сезонске пикове у периодима са нижом температуром и повећаном влажношћу (Kumlin и сар., 2008). Иако се грип свиња раније сматрао сезонским обољењем, попут сезонског грипа код људи, који се углавном јавља током зиме и пролећа, услед модела интензивног и високо концентрисаног узгоја у савременој свињарској индустрији, сматра се да више не показује изражену сезоналност (Ma, 2020).

Иако су клинички знаци инфлуенце код свиња први пут препознати током пандемије шпанског грипа 1918. године (Durando и сар., 2011), прва изолација вируса инфлуенце А код свиња описана је тек 1930. године (Lange и сар., 2009). Вирус *Influenza A/swine/Iowa/15/1930 H1N1* се сматра прототипом класичног свињског H1N1 соја (сH1N1) који је постепено еволуирао у Северној Америци током XX века, све до увођења троструког реасортантног касетног гена (*triple reassortant internal gene cassette*, TRIG), који се састоји од гена пореклом од птица, људи и свиња (Maines и сар., 2005).

Инфлуенца свиња проузрокује значајне економске губитке у свињарској производњи, првенствено због смањења телесне масе и смањеног прираста код заражених јединки. Ипак, у појединим случајевима инфекција може бити знатно тежа услед коинфекције са другим патогенима. Вирус грипа свиња, заједно са другим узрочницима, као што су PRRSV, PCV2, *M. hyopneumoniae*, *B. bronchiseptica* и *A. pleuropneumoniae*, може довести до развоја комплекса респираторних болести свиња, што сваке године резултира знатно повећаним морталитетом и економским губицима у свињарској индустрији (Schultz-Cherry и сар., 2012).

Инфлуенца А вирус је једноланчани РНК вирус негативног поларитета. На основу главних антигенских разлика у структури површинских протеина хемаглутинаина (*hemagglutinin*, HA) и неураминидазе (*neuraminidase*, NA), инфлуенца А вируси се деле у 18 HA и 11 NA подтипова.

Подтипови од H1 до H16 и од N1 до N9 су идентификовани код птица водених станишта, које се обично сматрају природним резервоаром ових вируса (Fouchier и сар., 2005), док су секвенце подтипова од H17 до H18 и од N10 до N11 откривене код слепих мишева (Tong и сар., 2012; Tong и сар., 2013).

2.7.1. Епизоотиологија

Само ограничен број подтипова инфлуенце А вируса је установљен код сисара, попут подтипова H1 и H3 који се већ дуго одржавају и круже и код људи и у популацији (Ма и сар., 2009). Два главна механизма која омогућавају брзу еволуцију инфлуенца А вируса су антигенски дрифт (*antigenic drift*) и антигенски шифт (*antigenic shift*). Антигенски дрифт настаје постепеним нагомилавањем мутација у HA и NA протеинима, што доводи до антигенских промена вируса. Овај механизам је одговоран за појаву сезонског грипа код људи. Са друге стране, антигенски шифт, односно реасортмент, настаје због сегментираних природе генома вируса инфлуенце – када две или више различитих инфлуенца А вируса инфицирају исту ћелију или домаћина, може доћи до прекомбинације и мешања сегмената генома, што резултира појавом нових реасортираних вируса. Овај механизам је одговоран за настанак три од укупно четири историјски значајне пандемије грипа код људи (1957 – азијски грип H2N2, 1968 – хонгконшки грип H3N2 и 2009 – пандемија H1N1) (Ма, 2020).

Сматра се да су свиње природни домаћини инфлуенца А вируса, као и да могу служити као „суд за мешање“ (*mixing vessel*) људских, птичијих и свињских сојева вируса, што омогућава настанак вируса са потенцијално пандемијским особинама (Ма и сар., 2009). Пандемија грипа 2009. године додатно је потврдила ову хипотезу, јер је била узрокована H1N1 реасортираним вирусом свињског порекла, који је садржао NA и M гене из евроазијског свињског вируса, док је преосталих шест гена потицало из северноамеричког троструког реасортмента (Garten и сар., 2009; Smith и сар., 2009).

Поред тога, свиње могу представљати и адаптивне домаћине за хумане и птичије сојеве инфлуенца А вируса. На пример, и људски вирус из пандемије шпанског грипа 1918. године (H1N1) и потпуно птичији H1N1 вируси су након адаптације постали две главне генетске линије које циркулишу код свиња. Оне се данас називају класични H1N1 (*classic H1N1*, cH1N1) и евроазијски, сличан птичијем H1N1 свињски вирус (*Eurasian avian-like H1N1*) (Ма, 2020).

Два основна подтипа вируса инфлуенце А циркулишу у запатима свиња. То су H1N1 и H3N2 подтипови. Подтип H1N1 је широко распрострањен у Северној Америци, Европи и Азији. До 1998. године инфлуенцу свиња у САД је изазивао искључиво субтип H1N1. Средином 1998. године субтип H3N2 се веома брзо проширио широм САД. У периоду од 1998. до 2000. године више од 50% свиња оболелих од инфлуенце у САД било је заражено субтипом H3N2 (Schneider и сар., 2001).

Специфична варијанта субтипа H1N1 вируса је током 1988. године у Канади довела до појаве јединствених жаришта тешких пнеумонија које су описиване као пролиферативне и некротичне (Morin и сар., 1990). Микроскопске промене ових пнеумонија су се одликовале некротичним бронхиолитисом, пролиферацијом пнеумоцита типа II, обиљем алвеоларног ексудата и хијалином дегенерацијом алвеоларних септи. Доказано је да је узрочник ових тешких пнеумонија настао генетским дрифтом постојећих северноамеричких изолата вируса H1N1 (Rekik и сар., 1994).

Антигенским шифтом настају још значајније промене у антигенској и генетској структури вируса инфлуенце, о чему сведоче многобројни случајеви широм света. Тако је у Енглеској 1992. године идентификован субтип H1N7 код свиња, који је настао као резултат реасортмента између хуманих и коњских изолата (Brown и сар., 1994). У Шкотској је 1994. године код свиња изолован субтип H1N2, настао као резултат реасортирања између људских и свињских изолата (Brown и сар., 1995). Генетски реасортмент између птичијих и свињских инфлуенца вируса је забележен и у Италији (Castrucci и сар., 1993). Птичији H1N1 вирус је такође изолован и код свиња у Кини (Guan и сар., 1996). Густа насељеност људи, нарочито на југозападу Азије, али

и у другим деловима света, омогућава учестале контакте људи са једне стране и свиња и живине, нарочито патака, са друге стране, а тиме и могућност да се два вируса различитих антигених карактеристика често нађу у једном организму. Кина представља регион у свету у коме се непрестано одигравају процеси преласка вируса међу различитим врстама кичмењака (свиње, коњи, птице и људи). Из тих региона, сваке године се појави нови тип вируса за људе (Radojičić и сар., 2011).

Дивље водене птице представљају природне резервоаре вируса инфлуенце А, док свиње имају значајну улогу као домаћини у којима може доћи до генетичких промена вируса и настанка нових варијанти са потенцијалом за прелазак међу врстама. Код птица се вирус првенствено репликује у епителу интестиналног тракта и инфекција најчешће протиче без клинички испољених знакова болести, док се код свиња репликација одвија у епителу респираторног тракта, што доводи до развоја респираторне болести. Код свиња се вирус најчешће преноси директним контактом са оболелим животињама, путем респираторних секрета, аеросола и инфективних капљица, при чему назофарингеални секрет представља важан извор инфекције (Radojičić и сар., 2011).

У природним условима, природна трансмисија вируса инфлуенце типа А може се дешавати током целе године, а постоји више фактора ризика који погодују преносу вируса и његовом континуираном циркулисању на фарми или унутар једног фармског система. Велики број животиња у запату и велики број свиња у објекту представљају добро познате факторе ризика (Poljak и сар., 2008; Mastin и сар., 2011; Fablet и сар., 2013).

Један од најзначајнијих фактора ризика у вези са вишом стопом детекције вируса инфлуенце је тип фарме, а посебно фарме са производњом од прашења до това (*farrow-to-finish*, FTF) (Corzo и сар., 2014). На FTF фармама, код товљеника се чешће открива вирус инфлуенце у назалним брисевима ако се налазе на истој фарми као и запат крмача. У оваквој ситуацији, све старосне категорије свиња налазе се на истом локалитету, иако су распоређене у различитим објектима, често у систему непрекидног усељавања и исељавања (*continuous-flow management*). У таквом систему, прасад се усељава у објекте са старијим свињама, чиме се омогућава одржавање циркулације инфлуенца А вируса. На већини FTF фарми, свиње се раздвајају по узрасту ради стварања патогено стабилних или хомогенизованих група. Та хомогеност се нарушава када се заостала прасад (они који су премали за своју старосну групу) спаја са новом групом, како би им се омогућило више времена за раст пре него што се пошаљу на клање. Код ових товљеника могу се уочити мање епидемије IAV у оквиру једне просторије (Corzo и сар., 2014).

У другом типу организације, познатом као „*all-in all-out*“ (AIAO) систем, све свиње се усељавају у објекат истовремено, тове се, и затим се заједно исељавају. Једна студија је показала да је одсуство AIAO система у вези са повећаним ризиком од инфекције IAV (Fablet и сар., 2013), док је друга студија установила да је AIAO систем у вези са мањим ризиком од система континуираног усељавања и исељавања (Corzo и сар., 2014).

Услови средине који погодују аеросолном преносу су ниска температура и ниска влажност (Lowen и сар., 2007). Инфлуенца А вирус се може открити у ваздуху и унутар и изван објеката, како код експериментално заражених животиња (Corzo и сар., 2013), тако и током епизоотија на терену (Corzo и сар., 2013а). Идеалне спољашње температуре и брзина ветра за аеросолни пренос између објеката тек треба да се утврде, али је присуство вируса доказано на удаљености и до 2,1 km од заражених фарми (Corzo и сар., 2014). Овај налаз потврђује могућност аерогеног ширења вируса између фарми.

2.7.2. Патогенеза и клиничка слика

Латентне (субклиничке) инфекције вирусом инфлуенце свиња типа А су честе код свиња, али могу изазвати и болест сличну оној која се јавља код људи, са симптомима обољења горњег респираторног тракта праћену повишеном температуром, кашљем, ринитисом, високим морбидитетом и ниском смртношћу (Crisci и сар., 2013).

Главне мете вируса су епителне ћелије респираторног тракта, али вирус такође може инфицирати и алвеоларне макрофаге (Meischel и сар. 2020).

По доспевању у организам пријемчиве јединке, вирус се везује за циљне епителне слузнице респираторног система (нос, трахеја и бронхије) и након иницијалне репликације, у појединачним ћелијама, у року од 1 до 3 дана, шири се по целом респираторном систему. У току најизраженијих клиничких симптома, наглашена је некроза и практично су захваћене све ћелије слузнице бронхија. У том периоду доминантан налаз представљају лобуларна ателектаза, емфизем и фокална коагулациона некроза епитела бронхија. У року од 72 сата, патогени процес достиже максимум, након чега се умножавање вируса смањује, а симптоми се смирују (Crisci и сар., 2013).

Механизми репарације почињу да делују приближно четвртог дана, али су у ексудату и даље присутне мононуклеарне ћелије запаљења и ћелијски детритус, што указује на акутно запаљење. Уочава се задебљање алвеоларних септи, интерстицијална пнеумонија и хиперплазија бронхијалног епитела. Виремија није присутна, а вирусни антиген се евентуално може доказати у регионалним (медијастиналним) лимфним чворовима. У настанку патолошког процеса значајну улогу играју и бактеријске инфекције (*G. parasuis* и *B. bronchiseptica*) (Heinen и сар., 2000; Larsen и сар., 2000).

На површини вируса налазе се два главна гликопротеина: хемаглутинин и неураминидаза. Везивање НА за остатке сијалинске киселине на површини ћелија домаћина доводи до ендцитозе вирусне честице (Crisci и сар., 2013). Молекул НА има кључну улогу у пупљењу вируса уклањањем сијалинске киселине, чиме омогућава ослобађање новоформираних вирусних честица из инфициране ћелије (Crisci и сар., 2013).

Урођени имунски одговор против вируса обухвата продукцију великих количина проинфламаторних цитокина као што су IFN α , TNF α и IL6. Дендритске ћелије, посебно плазмацитоидне (pDCs), играју важну улогу у овом одговору (Summerfield и McCullough, 2009). Доказано је да је продукција ових цитокина у корелацији са вирусним оптерећењем и тежином болести (Crisci и сар., 2013). Инфекција вирусом SIV изазива специфичан ћелијски и хуморални имуни одговор код свиња које се опорављају од болести, а серумски IgG и мукозни IgA могу заштитити животињу од поновне инфекције (Crisci и сар., 2013).

Главни вирусни протеини који нарушавају урођени имунски одговор су NS1 и PA-X, углавном блокирањем одговора интерферона типа I (Chaimayo и сар., 2018), као и активацијом инфламазома NLRP3 (Park и сар., 2018) у инфицираним епителним ћелијама и алвеоларним макрофагама. Коначно, главни механизми којима SIV избегава адаптивни имунски одговор домаћина су антигенски дрифт и антигенски шифт, који се односе углавном на НА и NA — два главна антигенска протеина на површини вируса према којима је усмерен неутралишући хуморални одговор (Crisci и сар., 2013).

Клинички симптоми акутне респираторне болести изазване вирусом инфлуенце А код природно инфицираних и експериментално заражених свиња укључују повишену телесну температуру, анорексију, кашаљ, отежано дисање, кијање, назални исцадак и слабији прираст. Грозница је најверодостојнији клинички знак и достиже врхунац у року од 24–48 сати након инфекције већином сојева SIV. Клинички знаци се обично јављају већ првог дана након инфекције (1 DPI – *day post infection*) у већини експерименталних инфекција свиња, како са хуманим тако и са свињским изолатима IAV (Jung и Chae, 2006; Sreta и сар., 2009; Weingartl и сар., 2009), затим другог дана, и трећег дана, што се поклапа са моментом када се вирус може детектовати у назалном секрету.

Клинички знаци престају између четвртог и осмог дана након инфекције код експериментално заражених животиња (Jung и Chae, 2006; Sreta и сар., 2009; Weingartl и сар., 2009). Код животиња које су вакцинисане против антигенски сличног соја пре изазивања инфекције, количина излученог вируса је значајно смањена, а излучивање престаје већ у року од 2–4 дана након инфекције (Detmer и сар., 2013). Хомологна вакцинација у идеалним условима доводи до потпуног одсуства или минималних клиничких знакова и излучивања вируса, али то није увек гарантовано (Romagosa и сар., 2011; Allerson и сар., 2013).

Инфлуенца свиња представља обољење са високом морбидитетом и ниским морталитетом. Иако вирус може циркулисати на фарми без присуства клиничких знакова, они се ипак уочавају код 80–100% свиња током епизоотије инфлуенце, односно код 30–50% свиња на ензоотски зараженим фармама. Смртност услед некомплицоване инфекције инфлуенцом је ретка, али је забележена у дијагностичким случајевима када је кашаљ довео до хематома трахеје и последичног гушења, као и када је анорексија довела до појаве улцерација на слузници желуца и искрвављења (Corzo и сар., 2013).

Много чешће, смртност, као последица инфлуенце свиња настаје услед секундарних бактеријских инфекција или коинфекција које су повезане са PRDC. Коинфекција инфлуенце са *G. parasuis* или PRRSV, повезана је са тежим клиничким током болести (Van Reeth и сар., 2001). Други патоген PRDC-а, *M. hyopneumoniae*, показује пролазан утицај или нема никаквог ефекта на ток инфекције код коинфекције са SIV (Yazawa и сар., 2004). *M. hyopneumoniae* изазива стазу цилија у трахеји и бронхијалном стаблу, што нарушава мукоцилијарни механизам одбране. Међутим, мала величина вируса инфлуенце (80–120 nm) омогућава му да избегне овај механизам, па је синергија са овим патогеном PRDC-а мало вероватна.

Један од највирулентнијих изолата са терена имао је пријављену смртност од 10% код товљеника, али су такође у плућима били изоловани и PRRSV, *P. multocida*, *S. suis* и друге *Streptococcus* врсте (Ma и сар., 2010). Како SIV представља једну од кључних компоненти PRDC-а, клинички знаци овог комплекса слични су онима који се описују за комплекс. Комплекс се одликује морбидитетом од 30–70% и морталитетом од 4–6%, што је слично показатељима саме инфекције вирусом инфлуенце (Opriessnig и сар., 2011).

2.7.3. Патоморфолошке промене

Приликом обдукције на плућима се ретко налазе лезије узроковане вирусом инфлуенце јер ова болест има низак морталитет, осим ако није компликована секундарним бактеријским инфекцијама. Макроскопски се од носних ходника до бронхиола уочава јака катарална до мукопурулентна упала, а количина слузи је довољна да зачепи мале ваздушне путеве и узрокује лобуларне или мутилобуларне ателектазе у краниовентралним деловима плућа. Макроскопски, али не и хистолошки, лезије могу изгледати врло слично онима узрокованим са *M. hyopneumoniae* (McGavin и Zachary, 2007). Лезије могу да се прошире и на кранијални део каудалних режњева плућа. Поред тога, анатомска аномалија трахеалног бронха код свиња може довести до чешћег настанка лезија у десном кранијалном режњу плућа (Detmer и сар., 2013).

Иако неке промене могу бити видљиве већ 48 сати након инфекције, макроскопске лезије у том периоду нису у потпуности развијене и само делимично одражавају микроскопске промене. Петог дана након инфекције, мултифокални лобуларни образац значајно боље кореспондира са микроскопским лезијама. На пример, присуство лобуларних ателектаза макроскопски се види као удубљене (конкавне), тамноцрвене, полигоналне зоне које су на додир чврсте. Лобуларна и лобарна ателектаза се јавља и код инфекција изазваних *Mycoplasma hyopneumoniae*, те се макроскопски не може разликовати од инфекције вирусом инфлуенце (Detmer и сар., 2013).

Издигнуте, тамноцрвене до љубичасте полигоналне зоне, које се често описују као „хепатоидне“ или „меснате“, одговарају алвеоларној консолидацији (алвеоле испуњене ћелијским детритусом, инфламаторним ћелијама и едемском течностју). Ова макроскопска лезија је више типична за аерогене бактеријске инфекције плућа, а у случају инфекције SIV, често се јавља у склопу PRDC-а или као последица секундарних бактеријских инфекција (Detmer, 2016).

Кључна микроскопска лезија инфекције вирусом инфлуенце типа А је некротично-гнојни бронхитис и бронхиолитис (Detmer и сар., 2013; Janke, 2014). Почетне промене се уочавају већ након 24 сата после инфекције и обухватају вакуоларну дегенерацију и некрозу епителних

ћелија бронхиола са губитком апикалних цилија. Ово се поклапа са ултраструктуралним налазима обилне продукције вируса у том периоду (Kolesnikova и сар., 2013).

До 48 сати после инфекције, некротичне епителне ћелије се одлбљују и акумулирају у лумену дисајних путева, заједно са неутрофилним гранулоцитима који мигрирају кроз епител, што ствара карактеристичну слику некротично-пурулентног бронхиолитиса. До 72 сата након инфекције, десквамација некротичних епителних ћелија је израженија, заједно са благим инфилтратом различитих инфламаторних ћелија. Преостале епителне ћелије се распростиру преко базалне мембране (атенуација), а перибронхиоларно лимфоидно ткиво постаје хиперпластично због повећања броја лимфоцита и смањења броја макрофага (Detmer, 2016).

Између четвртог и петог дана после инфекције јављају се први знаци опоравка који укључују различит степен епителне хиперплазије, појаву митотских фигура у епителним ћелијама и благи бронхијални и бронхиоларни инфламаторни инфилтрат који се шири и на алвеоларне септуме. Између 7. и 10. дана после инфекције уочавају се различит степен интерстицијалне пнеумоније, периваскуларне и перибронхиоларне лимфоидне пролиферације, као и нормални или хиперпластични бронхијални епител. Од 14. до 21. дана после инфекције, респираторно ткиво би требало да буде у потпуности регенерисано на микроскопском нивоу (Lee и сар., 2007; Sreta и сар., 2009).

Током процеса опоравка, може се развити облитеришући бронхиолитис услед изложености ламине проприје и формирања полипозних структура у лумену бронхиола (Janke, 2014).

У појединим случајевима, репликација и оштећење ткива ограничавају се само на бронхијално стабло, при чему се јављају лобули без лезија или са лезијама ограниченим на бронхиоле. У другим случајевима, инфламација се шири ван бронхиола на алвеоларне зидове, изазивајући тешке промене са лобуларном консолидацијом. Иако су најизраженије и најконзистентније лезије присутне у бронхиолама, промене на алвеолама могу бити веома варијабилне и обухватају ателектазу као последицу опструкције дисајних путева, консолидацију плућног паренхима услед испуњавања алвеола инфламаторним ексудатом и ћелијским инфилтратом, интерстицијалну пнеумонију или комбинацију ових промена. Образац алвеоларних лезија углавном је лобуларни, што је последица разгранатости бронхијалног стабла која доводи до неуједначене дистрибуције вируса, као и дебелих интерлобуларних септума код свиња и говеда који спречавају ширење у суседне лобуле. Алвеоларни колапс или опструктивна ателектаза нису увек уочљиви ни микроскопски, ни макроскопски, и јављају се када дође до значајног накупљања детритуса (или у случају облитеришућег бронхиолитиса) који блокира проток ваздуха до алвеоларних простора (Detmer, 2016).

2.7.4. Дијагностика и контрола

Иако се дијагностичка испитивања често ослањају на узорке добијене од појединачних животиња, они се обично анализирају у виду пулова. Антемортални узорци подразумевају прикупљање назалног секрета помоћу синтетичких брисева и суспензију течности у физиолошком раствору или сличном раствору. Орални флуиди (узорци пљувачке прикупљени помоћу ужета) представљају веома погодан тип узорка за молекуларну дијагностику и надзор инфлуенце свиња на нивоу запата, међутим, ограничена успешност изолације вируса може представљати значајан недостатак за даљу карактеризацију изолата (Decorte и сар., 2015). Поред оралних флуида, користе се и узорци прикупљени стерилним газима са коже вимена, које прасад током сисања контаминирају оралним и назалним секретом. Групни и амбијентални узорци веома су ефикасни за детекцију инфлуенце на фармама, док су индивидуални узорци погоднији за изолацију и секвенцирање вируса (Garrido-Mantilla и сар., 2019).

Постмортални узорци укључују бронхијалне брисеве или бронхоалвеоларни лаваж добијен испирањем интактног респираторног тракта, као и свеже и формалином фиксиране делове плућа са карактеристичним лезијама (Janke, 2014). Поред широког спектра дијагностичких метода, хистопатолошко испитивање плућног ткива и даље представља вредан дијагностички

алат код инфекције инфлуенца вирусом код свиња због тога што су акутне лезије готово патогномоничне за овај вирус и што лезије изазване вирусом остају присутне и након елиминације вируса, иако постају мање специфичне током резолуције. Ниједан други респираторни патоген код свиња не изазива тако изражен некротизујући бронхитис и бронхиолитис. Чак и тешка гнојна бронхопнеумонија не узрокује слично оштећење дисајних путева (Janke, 2014).

Тестови директне или индиректне имунофлуоресценције у којима су коришћени хиперимуни серуми (поли-клонска антитела) за откривање вирусног антигена у смрзнутим пресецима плућа дуго су били главна метода у ветеринарским дијагностичким лабораторијама (Janke, 2014). Имунохистохемијско бојење препарата добијених након обраде ткива фиксираног у формалину данас се чешће користи за детекцију вируса. Препоручује се употреба моноклонских антитела на конзервисани нуклеопротеин типа А, јер открива све подтипове вируса инфлуенце (Vincent и сар., 1997). Вирусни антиген се визуализује у цитоплазми и једру, при чему преовладава бојење једра, што одражава чињеницу да се током морфогенезе вируса нуклеопротеин синтетише у једру (Julkunen и сар., 2001).

Методе ISH на пресецима ткива такође су описане (Jung и сар., 2002), али се рутински ретко користе (Janke, 2014).

Комерцијално доступни ELISA тестови за откривање антигена, развијени за хумане и авијарне вирусе инфлуенце, користе се у неким лабораторијама за детекцију вируса у назалним или бронхијалним брисевима, као и у бронхоалвеоларним лаважима. Изолација вируса може се извршити у ембрионираним пилећим јајима или на неколико стандардних ћелијских линија. Данас се PCR рутински користи за детекцију и карактеризацију вируса инфлуенце изолованих у јајима или културама ћелија. Изолација вируса се чешће користи за припрему аутогених вакцина или за појачање вирусног титра ради одређивања подтипа, него за рутинску дијагностику (Janke, 2014).

Тренутни стандард у дијагностици SIV су PCR методе, јер омогућавају обраду великог броја узорака ефикасно и мање су осетљиве на квалитет узорака. Ове методе могу бити спроведене као појединачни или мултиплекс тест. Прво се детектују гени за конзервисане нуклеопротеине или матрикс-протеине као скрининг тест, након чега следе специфичне анализе за HA и NA подтипове (Spackman и сар., 2002; Richt и сар., 2004; Landolt и сар., 2005).

Најефикаснија стратегија за контролу и превенцију инфекције узроковане вирусом инфлуенце типа А код свиња јесте вакцинација. За разлику од других врста, као што су људи или коњи, код свиња не постоји формализован систем препоруке сојева за вакцинацију. Одобрене и испитане вакциналне технологије за примену код свиња, деле се у две главне групе: нерепликујуће вакцине (*non-replicative vaccines*) и репликујуће вакцине (*replicative vaccines*). Нерепликујуће вакцине се сматрају безбеднијим решењем јер одсуство репликације елиминише ризик од генетског реасортмента са циркулишућим теренским сојевима. Репликујуће вакцине имају способност репликације и самим тим потенцијал да ступе у генетски реасортмент са циркулишућим сојевима у популацији (Mancera Gracia и сар., 2020).

3. ЦИЉ И ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА

Основни циљ овог истраживања био је утврђивање присуства и учесталости макроскопских и микроскопских промена на респираторним и придруженим лимфоидним органима свиња различитих производних категорија, уз истовремено утврђивање присуства и заступљености најзначајнијих респираторних патогена укључених у PRDC и анализирање њихове повезаности са установљеним патоморфолошким променама на испитиваним органима. Посебна пажња била је усмерена на испитивање потенцијалне интеракције између *M. hyopneumoniae*, вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња, вируса инфлуенце свиња и цирковируса свиња тип 2, као најзначајнијих узрочника PRDC-а у савременој свињарској производњи. Поред класичне патоморфолошке анализе, циљ истраживања био је и да се имунохистохемијским испитивањима CD3 и CD21 ћелија додатно сагледа локални имунски одговор у респираторним органима свиња. Испитивање Т и В лимфоцитне компоненте инфламаторног инфилтрата омогућило је боље разумевање улоге локалног мукозног имунитета, перибронхиоларних лимфоидних агрегата и хроничне антигенске стимулације у патогенези PRDC-а, као и могућег утицаја имуносупресивних вируса на лимфоидну архитектуру респираторног система.

Истраживање је обухватило угинулу прасад из различитих производних категорија, (прасилишта, одгоја и предтова) са комерцијалне фарме свиња затвореног типа, као и клинички здраве товљенике на линији клања пореклом са исте фарме. На тај начин омогућено је упоредно сагледавање присуства патоморфолошких промена и респираторних инфекција код свиња различитих производних категорија и процена присуства субклиничких респираторних лезија код животиња које нису испољавале клиничке знаке болести (клинички здравих товљеника на линији клања).

Један од кључних циљева истраживања био је да се резултати молекуларно-генетичких испитивања доведу у везу са патоморфолошким налазима на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима. На овај начин омогућено је не само утврђивање присуства патогена, већ и сагледавање њиховог могућег патогенетског значаја у настанку различитих типова респираторних лезија. Посебно је било важно испитати значај коинфекција и полиинфекција, имајући у виду да савремени концепт PRDC-а подразумева синергистичко деловање више патогена у настанку тежих и хроничних облика респираторних обољења.

У оквиру истраживања постављени су следећи задаци:

- утврђивање присуства и учесталости макроскопских и микроскопских промена на респираторним и придруженим лимфоидним органима свиња различитих производних категорија;
- анализа типа, распрострањености и тежине хистопатолошких лезија на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима;
- имунохистохемијска карактеризација инфламаторног инфилтрата применом CD3 и CD21 маркера;
- молекуларно-генетичка детекција *M. hyopneumoniae*, PRRSV1, SIV и PCV2 у испитиваном материјалу;
- утврђивање присуства појединачних узрочника и два или више узрочника истовремено;
- анализа повезаности између присуства респираторних патогена и установљених патоморфолошких промена;
- процена значаја субклиничких респираторних лезија код клинички здравих товљеника на линији клања;
- утврђивање потенцијалне повезаности између интензитета патоморфолошких промена и присуства једног или више респираторних патогена.

С обзиром на ограничен број савремених истраживања у Србији, нарочито на југу земље, која истовремено обухватају патоморфолошку, имунохистохемијску и молекуларно-генетичку анализу PRDC-а кроз различите производне категорије свиња, резултати овог истраживања имају значај не само са научног, већ и са практичног и епизоотиолошког аспекта. Добијени резултати могу допринети бољем разумевању патогенезе респираторних инфекција свиња, прецизнијој процени улоге појединачних патогена и њихових интеракција, као и унапређењу програма контроле и здравственог надзора у интензивној свињарској производњи.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1. Материјал

4.1.1. Биолошки материјал

Биолошки материјал коришћен у истраживању обухватао је узорке органа и ткива свиња пореклом са фарме затвореног типа са целовитом технологијом карактеристичном за индустријски тип производње. Узорци су прикупљани током обдукције угинуле прасади из различитих производних категорија, као и приликом прегледа товљеника на линији клања. За даља испитивања узорковани су делови плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова.

Материјал за патоанатомско испитивање били су лешеве прасади који су транспортовани са фарме и обдуковани у обдукционој сали Ветеринарског специјалистичког института „Ниш“, као и органи товљеника прегледани на линији клања. Том приликом је извршена макроскопска процена морфолошких промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима.

Материјал за хистопатолошко испитивање чинили су узорци плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова који су након узорковања фиксирани у 10% пуферизованом неутралном формалину. Након фиксације, узорци су подвргнути стандардној хистолошкој обради, изради парафинских блокова и припреми ткивних препарата за микроскопску анализу.

Материјал за молекуларну детекцију узрочника чинили су узорци истих органа и ткива (плућа, душника, тонзила и трахеобронхијалних лимфних чворова) који су након узорковања замрзавани на температури -70°C . Тако припремљени узорци коришћени су за изолацију нуклеинских киселина и детекцију генома одабраних вирусних и бактеријских узрочника применом метода *real-time* PCR и *real-time* RT-PCR.

4.1.1.1. Место узорковања – карактеристике фарме

Узорковање материјала је спроведено од октобра 2020. до јуна 2021. године на фарми свиња затвореног типа са целовитом технологијом производње од прасилишта до това. Фарма се налазила на југу Србије у оквиру Топличког управног округа на епизоотиолошком подручју Ветеринарског специјалистичког института Ниш. На фарми свиња се није спроводила имунопрофилактика против *M. hyopneumoniae*, вируса респираторног и репродуктивног синдрома свиња (PRRSV), вируса инфлуенце свиња (SIV) и цирковируса свиња тип 2 (PCV2).

У време узорковања, капацитет фарме је био преко 15000 јединки, од чега је било 1500 крмача, 300 назимица, 30 нерастова, 2700 прасади на сиси, 4200 прасади у одгоју и 7000 прасади у предтову и тову. Производња товљеника је била основна производна оријентација фарме. Категорија прасади на сиси је обухватала прасад од рођења до 28 дана старости. У одгоју су биле јединке од 28 до 75 дана старости. Након одгоја, од 75 до 120 дана старости, јединке су биле у категорији предтова, након чега су премештане у категорију това, од 120 до 180 дана старости, тј. до завршетка това.

4.1.1.2. Узорци са фарме

Непосредно по угинућу, лешеве прасади су са фарме транспортовани возилом са расхладном комором до обдукционе сале Ветеринарског специјалистичког института Ниш. Обдукције и

узорковања органа и ткива на лешевима прасади из производних фаза прасади на сиси (50 јединки), одгоја (50 јединки) и предтова (30 јединки) вршене су у обдукционој сали Ветеринарског специјалистичког института Ниш у Нишу.

У обдукционој сали извршена је обдукција сваког допремљеног уинулог прасета, процена патолошких лезија и узорковање промењених делова органа и ткива за даља испитивања – плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова.

4.1.1.3. Узорци са линије клања

Прегледи и узорковања органа и ткива товљеника (52 јединке), пореклом са исте фарме као и уинула прасад, вршени су у кланици на линији клања. На линији клања су од закланих товљеника узорковани делови плућа, душника и трахеобронхалних лимфних чворова. Код товљеника на линији клања није извршено узорковање тонзила услед специфичности процеса клања и обраде трупова.

4.1.1.4. Укупан број узорака

Истраживање је обухватило укупно 182 јединке из четири производне фазе, при чему је за даља испитивања узорковано 182 узорка плућа, 182 узорка душника, 130 узорака тонзила и 182 узорка трахеобронхалних лимфних чворова.

Сваки узорак је подељен на два дела, при чему је једна половина замрзавана на -70 °C за даља молекуларно-генетичка испитивања, док је друга половина фиксирана у 10% пуферизованом неутралном формалину ради даљих хистопатолошких и имунохистохемијских испитивања.

4.1.2. Опрема коришћена у истраживању

У истраживању је коришћена лабораторијска опрема за хистолошку обраду узорака ткива, хистопатолошку анализу препарата, молекуларну детекцију узрочника, као и опрема за извођење имунохистохемијских испитивања.

4.1.2.1. Опрема за хистолошку обраду узорака ткива

За хистолошку обраду узорака ткива коришћена је следећа лабораторијска опрема:

- термостат (*Binder GmbH*, Немачка),
- дозатор парафина (*Paraffin Dispenser KD-BMR, Kedee*, Кина),
- ротациони микротом *Leica RM2125 RTS (Leica Biosystems, Немачка)*,
- термостатско водено купатило *KD-P Water Bath (Kedee, Кина)*.

4.1.2.2. Опрема за хистопатолошку анализу узорака ткива

За анализу хистолошких препарата коришћена је следећа опрема:

- светлосни микроскоп *Olympus BX51 (Olympus Corporation, Јапан)*,
- дигитална камера *Olympus Color View III (Olympus Corporation, Јапан)*.

4.1.2.3. Опрема за молекуларну детекцију узрочника

За молекуларну детекцију узрочника коришћена је следећа лабораторијска опрема:

- вортекс миксер *Combi-Spin FVL-2400N* (*Biosan*, Летонија),
- микроцентрифуга (*Eppendorf*, Немачка),
- *Real-time PCR* апарат *Applied Biosystems 7500 Fast* (*Applied Biosystems*, САД).

4.1.2.4. Опрема за имунохистохемијска испитивања

За извођење имунохистохемијских испитивања коришћена је следећа лабораторијска опрема:

- рН метар
- шејкер
- влажна комора
- микроталасна пећница (за демаскирање антигена),
- светлосни микроскоп *Olympus BX51* (*Olympus Corporation*, Јапан).

4.1.3. Дијагностикуми и реагенси

У истраживању су коришћени различити дијагностикуми и реагенси намењени за хистолошку обраду узорак ткива, молекуларну детекцију узрочника, као и за извођење имунохистохемијских испитивања.

4.1.3.1. Дијагностикуми и реагенси за хистолошку обраду узорак ткива

За хистолошку обраду и бојење узорак ткива коришћени су следећи дијагностикуми и реагенси:

- 10% пуферизовани неутрални формалин,
- етанол различитих концентрација (75%, 96% и 100%),
- ксилол,
- парафин,
- хематоксилин (*Hematoxylin M*, *Biognost*, Хрватска),
- еозин (*Eosin Y 1% Aqueous*, *Biognost*, Хрватска),
- медијум за монтирање *DPX mountant* (*Merck*, Немачка).

4.1.3.2. Дијагностикуми и реагенси за молекуларну детекцију узрочника

За молекуларну детекцију узрочника коришћени су следећи дијагностикуми и реагенси:

- комерцијални кит за екстракцију ДНК/РНК *Qiagen® GmbH* (*Indical Bioscience*, Немачка),
- PBS (*Phosphate Buffer Solution*),
- стаклене куглице за хомогенизацију узорак,
- *Luna Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit*,
- *Brilliant III Ultra-Fast qPCR MasterMix*,
- специфични прајмери и пробе за *real-time PCR* и *real-time RT-PCR* детекцију узрочника (вируса респираторног и репродуктивног синдрома свиња (PRRSV), вируса инфлуенце свиња (SIV), цирковируса свиња тип 2 (PCV2), *M. hyopneumoniae*).

4.1.3.3. Дијагностикуми и реагенси за имунохистохемијска испитивања

За извођење имунохистохемијских испитивања коришћени су следећи дијагностикуми и реагенси:

- *EnVision FLEX Mini Kit (Dako, Данска)* који садржи:
 - *EnVision FLEX Wash Buffer (TBST)*,
 - *EnVision FLEX Peroxidase Blocking Reagent*,
 - *EnVision FLEX HRP*,
 - *FLEX DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)*,
 - цитратни пуфер (pH 6,0),
- козји серум (разређење 1:50),
- моноклонско антитело CD3 (*monoclonal mouse anti-human F.7.2.38; DAKO, Glostrup, Данска*),
- моноклонско антитело CD21 (*monoclonal mouse anti-human Clone 1F8, ready-to-use; DAKO, Glostrup, Данска*),
- медијум за монтирање *Glycergel*.

4.2. Методе

4.2.1. Макроскопска анализа узорака

У току вршења обдукције угинуле прасади из производних фаза прасади на сиси, одгоја и предтова, као и приликом прегледа и узорковања циљаних органа од товљеника на линији клања, извршена је патоморфолошка процена промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима, а потом и разврставање установљених промена у складу са описима морфолошких промена у литератури (Aleksić-Kovačević, 2019).

У складу са тим, формирана је база патоанатомских налаза на плућима (Табела 1.), душнику (Табела 2.), тонзилама (Табела 3.) и трахеобронхалним лимфним чворовима (Табела 4.).

Табела 1. Списак патоанатомских налаза на плућима

Редни број	Патоанатомски налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / ВО
2	хиперемија плућа	<i>Hyperaemia pulmonum</i> / HP
3	хиперемија и едем плућа	<i>Hyperaemia et oedema pulmonum</i> / HOEP
4	интерстицијална пнеумонија	<i>Pneumonia interstitialis</i> / PI
5	гнојна бронхопнеумонија	<i>Bronchopneumonia purulenta</i> / BPP
6	фибриозна бронхопнеумонија	<i>Bronchopneumonia fibrinosa</i> / BPF
7	плеурупнеумонија	<i>Pleuropneumonia</i> / PP

Табела 2. Списак патоанатомских налаза на душнику

Редни број	Патоанатомски налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / ВО
2	хиперемија душника	<i>Hyperaemia tracheae</i> / HTR
3	катарални трахеитис	<i>Tracheitis catharalis</i> / TRC

Табела 3. Списак патоанатомских налаза на тонзилама

Редни број	Патоанатомски налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	хиперемија тонзила	<i>Hyperaemia tonsilae</i> / HTON
3	тонзилитис	<i>Tonsilitis</i> / TON
4	хеморагични тонзилитис	<i>Tonsilitis haemorrhagica</i> / TONH

Табела 4. Списак патоанатомских налаза на трахеобронхалним лимфним чворовима

Редни број	Патоанатомски налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	лимфаденитис	<i>Lymphadenitis tracheobronchialis</i> / LDTB
3	хеморагични лимфаденитис	<i>Lymphadenitis tracheobronchialis haemorrhagica</i> / LDTBH

4.2.2. Хистолошка обрада узорка ткива

Хистолошка обрада узорка ткива је извршена у хистопатолошкој лабораторији Ветеринарског специјалистичког института „Ниш“ у Нишу. Узорци плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова су најпре фиксирани у 10% пуферизованом неутралном формалину у трајању од 72 сата. Након тога, узорци су моделирани и ручно процесовани. Процесовање узорка је обављено дехидратацијом кроз серију алкохола (75%, 96% и 100%), просветљењем узорка у ксилолу и импрегнирањем узорка течним парафином на 56 °C у термостату (*Binder GmbH*, Немачка). Укалупљивање узорка у парафинске блокове је обављено уз помоћ дозатора парафина (*Paraffin Dispenser KD-BMR*, *Kedee*, Кина). Парафински калупи су потом сечени на микротому *Leica RM2125 RTS* (*Leica Biosystems*, Немачка) на ткивне исечке дебљине 4 до 5 µm, а затим су монтирани на предметна стакла уз помоћ термостатског воденог купатила (*KD-P Water Bath*, *Kedee*, Кина), при чему је температура воде у воденом купатилу износила 48 °C. Након монтирања на предметно стакло узорци су сушени најпре 20 минута у термостату на 56 °C, а потом 24 сата на собној температури.

Бојење ткивних исечака обављено је ручно, стандардном хистохемијском методом бојења хематоксилином и еозином. Узорци су најпре депарафинисани у ксилолу и рехидрирани у серији алкохола (100%, 96%) и води, а потом су бојени хематоксилином (*Hematoxylin M*, *Biognost*, Хрватска) 5 минута и еозином (*Eosin Y 1% Aqueous*, *Biognost*, Хрватска) 3 до 4 минута. Између ових бојења, узорци су испирани у води 5 минута. Након бојења еозином, узорци су дехидрирани у серији алкохола растуће концентрације (96%, 100%), а потом третирани ксилолом 15 минута. За трајно монтирање препарата коришћен је *DPX* медијум за монтирање (*DPX mountant*, *Merck*, Немачка), након чега је извршено покривање ткивних исечака стакленим лџуспицама.

4.2.3. Хистопатолошка анализа узорка ткива

Хистопатолошка анализа узорка ткива извршена је на Катедри за патологију Факултета ветеринарске медицине, Универзитета у Београду. За хистопатолошку евалуацију ткивних узорка плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова коришћен је микроскоп *Olympus BX51* (*Olympus Corporation*, Јапан) уз употребу камере *Olympus Color View III* за прављење фотодокументације. Извршена је систематична процена свих ткивних структура плућа (бронхуса, бронхиола, алвеола, интералвеоларних септи, присуства и типа

алвеоларног садржаја, интерстицијума, перибронхијалног и перибронхиоларног ћелијског инфилтрата, плеуре), душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова.

Хистопатолошке промене уочене на прегледаним ткивима и органима су описане, класификоване и приказане табеларно (промене на плућима (Табела 5.), душнику (Табела 6.), тонзилама (Табела 7.) и трахеобронхалним лимфним чворовима (Табела 8.)), чиме је формирана база хистопатолошких дијагноза прилагођена потребама истраживања, а у складу са описима морфолошких промена из литературе (Aleksić-Kovačević, 2019).

Табела 5. Списак хистопатолошких налаза на плућима

Редни број	Хистопатолошки налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	хиперемија и едем плућа	<i>Hyperaemia et oedema pulmonum</i> / HOEP
3	хеморагије	<i>Haemorrhagiae pulmonum</i> / HEM
4	наглашен интерстицијум плућа/бронхиолитис/перибронхиолитис	<i>Interstitium pulmonum intensum/ Bronchiolitis/Peribronchiolitis</i> / NINT/BL/PBL
5	интерстицијална пнеумонија	<i>Pneumonia interstitialis</i> / PI
6	гнојна бронхопнеумонија	<i>Bronchopneumonia purulenta</i> / BPP
7	фибриозна бронхопнеумонија	<i>Bronchopneumonia fibrinosa</i> / BPF
8	бронхоинтерстицијална пнеумонија	<i>Pneumonia bronchointerstitialis</i> / BIP

Табела 6. Списак хистопатолошких налаза на душнику

Редни број	Хистопатолошки налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	катарални трахеитис	<i>Tracheitis catharalis</i> / TRC
3	катарални десквамативни трахеитис	<i>Tracheitis catharalis desquamativa</i> / TRCD
4	катарални муцинозни трахеитис	<i>Tracheitis catharalis mucinosa</i> / TRCM

Табела 7. Списак хистопатолошких налаза на тонзилама

Редни број	Хистопатолошки налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	хиперемија тонзила	<i>Hyperemia tonsillarum</i> / HIP
3	тонзилитис	<i>Tonsillitis</i> / TON
4	ерозивни тонзилитис	<i>Tonsillitis erosiva</i> / TONE
5	лимфоидна хиперплазија тонзила	<i>Hyperplasia lymphoidea tonsillarum</i> / LHIP
6	деплеција лимфних фоликула тонзила	<i>Depletio folliculorum lymphaticorum tonsillarum</i> / DLF

Табела 8. Списак хистопатолошких налаза на трахеобронхалним лимфним чворовима

Редни број	Хистопатолошки налаз	Латински назив / ознака
1	без промена	- / BO
2	хиперемија л.ч.	<i>Hyperaemia lymphonodii tracheobronchales</i> / HIP

3	лимфоидна хиперплазија л.ч.	<i>Hyperplasia lymphoidea lymphonodii tracheobronchales</i> / LHIP
4	деплекција лимфних фоликула л.ч.	<i>Depletio folliculorum lymphonodii tracheobronchales</i> / DLF
5	реактивни лимфаденитис	<i>Lymphadenitis reactiva</i> / LDR
6	хеморагични лимфаденитис	<i>Lymphadenitis haemorrhagica</i> / LDH

4.2.4. Методе молекуларне детекције узročника

За молекуларно-генетичка испитивања одабрани су репрезентативни узорци плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова од 44 јединке (по 11 јединки из сваке од испитиваних производних категорија). Избор узорака за молекуларно-генетичка испитивања извршен је тако да су равномерно били заступљени различити типови макроскопских и микроскопских патолошких промена, утврђених у оквиру сваке од испитиваних категорија. За сваку испитивану јединку формиран је збирни узорак (*pool*), од узорака плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова.

Детекција генома вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV1), вируса инфлуенце свиња (SIV), цирковируса свиња тип 2 (PCV2) и *M. hyopneumoniae* извршена је применом *real-time* PCR и *real-time* RT PCR метода у лабораторији за бактеријске зоонозе и молекуларну дијагностику Ветеринарског специјалистичког института „Ниш“ у Нишу. Испитивања су обухватила следеће фазе:

1. припрему узорака за екстракцију,
2. изолацију/екстракцију нуклеинских киселина (НК-ДНК/РНК) и
3. амплификацију циљних секвенци.

4.2.4.1. Припрема узорака за екстракцију нуклеинских киселина

Из узорака плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова издвојени су мали комадићи ткива који су хомогенизовани у стерилном *PBS* раствору са стакленим куглицама. Хомогенизација је спроведена вортексирањем у трајању од 5 до 10 минута (*Combi-Spin FVL-2400N*, *Biosan*, Летонија), након чега су узорци кратко центрифугирани (3000 g, 15 секунди) (*Eppendorf*, Немачка). За екстракцију нуклеинских киселина коришћено је 200 µl супернатанта.

4.2.4.2. Екстракција нуклеинских киселина

Екстракција ДНК/РНК је изведена коришћењем комерцијалног кита *Qiagen® GmbH (Indical Bioscience*, Немачка) према упутству произвођача кита. Сам поступак се састојао из неколико фаза:

1. Прва фаза – лизирање узорака

У тубе запремине 2,0 ml (*Eppendorf*, Немачка) додавано је 20 µl протеиназе К, 200 µl хомогенизованог узорка и 100 µl пуфера за лизирање (*VXL* пуфер). Затим су тубе вортексирани 15 секунди и инкубирани 15 минута на собној температури (20 – 25 °C). Након инкубирања тубе са садржајем су кратко центрифугирани у трајању од неколико секунди (да би се отклонили трагови садржаја са запушача и спречила контаминација), а затим је додавано по 350 µl другог пуфера за лизирање (*ACB* пуфер). Садржај је вортексиран током 15 секунди до потпуне хомогенизације и кратко центрифугиран у трајању од неколико секунди.

2. Друга фаза – везивање НК за силика мембрану

Припремљени садржај је пажљиво пребачен у колоне са силика мембраном и центрифугиран на 6000 g током 1 минута. Филтрат је одбачен заједно са сабирном тубом за сакупљање филтрата и колоне са силика мембраном су постављене у нове сабирне тубе.

3. Трећа фаза – испирање силика мембране првим пуфером за испирање (*AW1* пуфер)

У колонама са силика мембраном додато је 600 µl пуфера за испирање, после чега су колоне центрифугиране на 6000 g током 1 минута. Филтрат је одбачен заједно са сабирном тубом за сакупљање филтрата и колоне са силика мембраном су постављене у нове сабирне тубе.

4. Четврта фаза – испирање силика мембране другим пуфером за испирање (*AW2* пуфер) У колонама са силика мембраном додали смо 600 µl пуфера за испирање, после чега су колоне центрифугиране на 6000 g током 1 минута. Филтрат је одбачен заједно са сабирном тубом за сакупљање филтрата и колоне са силика мембраном су постављене у нове сабирне тубе.

5. Пета фаза – сушење силика мембране
Колоне са силика мембраном су центрифугиране на 20000 g током 2 минута.

6. Шеста фаза – отпуштање НК
Колоне са силика мембраном су пребачене у тубе од 1,5 ml (*Eppendorf*, Немачка), додато је 100 µl растварача за отпуштање НК са силика мембране (*AVE* пуфер), а затим су колоне инкубиране на собној температури током 1 минута и центрифугиране на 20000 g током 1 минута.

7. Екстраховане нуклеинске киселине су у микротубама (*Eppendorf*, Немачка) чуване на – 20 °C до даљег коришћења.

4.2.4.3. Детекција генома вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV1), вируса инфлуенце свиња (SIV), цирковируса свиња тип 2 (PCV2) и *M. hyopneumoniae*

Амплификација циљних секвенци изведена је према протоколима објављеним у литератури (Kleiboecker и сар., 2005, Spackman и сар., 2002, Olvera и сар., 2004, Strait и сар., 2008) коришћењем специфичних прајмера и проба.

У свакој серији испитивања као негативна контрола амплификације без матрице (*no-template control* – *NTC*) коришћена је *PCR-free* вода. Као позитивне контроле коришћени су одговарајући референтни ДНК и РНК материјали из колекције Ветеринарског специјалистичког института „Ниш“. У поступак екстракције нуклеинских киселина укључена је негативна контрола екстракције, која је обрађивана истовремено и на исти начин као испитивани узорци.

Серија испитивања сматрана је валидном уколико код негативне контроле амплификације и негативне контроле екстракције није регистрован специфичан сигнал амплификације, док је код одговарајуће позитивне контроле регистрован очекивани специфичан сигнал, са *St* вредношћу у прихватљивом опсегу дефинисаном валидацијом.

Резултати су тумачени у складу са критеријумима утврђеним валидацијом и важећим лабораторијским процедурама за сваки појединачни протокол. За детекцију PRRSV1 и SIV узорак је класификован као позитиван када је утврђена *St* вредност ≤ 37 , док је за детекцију *M. hyopneumoniae* и PCV2 критеријум позитивности била *St* вредност ≤ 40 . Ниједан испитивани узорак није класификован као граничан или неодређен.

Јединка је сматрана позитивном на одређени патоген онда када је тај патоген детектован у збирном узорку формираном од њених органа (плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова).

4.2.4.3.1. *Real-time* RT PCR протокол за детекцију генома PRRSV1

Real-time RT PCR протокол за утврђивање присуства генома европског генотипа вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV1) примењен је према процедури коју су описали Kleiboecker и сар., 2005, уз коришћење одговарајућих прајмера и проба (Табела 9).

Табела 9. Редослед нуклеотида за прајмере и пробу за *real-time* RT PCR (Kleiboeker и сар., 2005)

Протокол за <i>real-time</i> RT PCR	Прајмер/проба	Секвенце (5' - 3')
Kleiboeker и сар., 2005	EU PRRS-F (50µM)	GCACCACCTCACCCAGAC
	EU PRRS-R (50µM)	CAGTTCCTGCGCCTTGAT
	EU PRRS-проба (50µM)	6-FAM-CCTCTGCTTGCAATCGATCCAGAC-BHQ1

Састав реакционе смеше за један узорак приказан је у Табели 10.

Табела 10. Реакциона смеша за *real-time* RT PCR протокол према Kleiboeker-у за један узорак

Luna Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit	12,5 µl
Вода за PCR	6 µl
EU PRRS-F (50µM)	0,2 µl
EU PRRS-R (50µM)	0,2 µl
EU PRRS-проба (50µM)	0,1 µl
ензим - реверзна транскриптаза	1 µl
Укупно	20 µl

Након припреме, реакционој смеши је додавано по 5 µl екстраховане РНК из узорак. Финална концентрација прајмера у PCR реакцији износила је 400 nM, а концентрација пробе 200 nM. Проба је означена бојом *FAM*.

Real-time RT PCR реакција за овај протокол је изведена на апарату *Applied Biosystems 7500 Fast* (САД) према температурном режиму приказаном у Табели 11.

Табела 11. Температурни режим за протокол за PRRS

	Број понављања	Температура	Време
Реверзна транскрипција	1x	55 °C	10 минута
Почетна денатурација	1x	95 °C	1 минут
Денатурација РНК	45x	95 °C	10 секунди
Издуживање ланаца		60 °C	30 секунди

4.2.4.3.2. *Real-time* RT PCR протокол за детекцију генома SIV

Real-time RT PCR протокол за утврђивање присуства генома вируса инфлуенце А код свиња (SIV) примењен је према процедури коју су описали Sprackman и сар., 2002, уз коришћење одговарајућих прајмера и проба (Табела 12).

Табела 12. Редослед нуклеотида за прајмере и пробу за *real-time* RT PCR (Spackman и сар., 2002)

Протокол за <i>real-time</i> RT PCR	Прајмер/проба	Секвенце (5' - 3')
Spackman и сар., 2002	Fwd:M	AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG
	Rev1:M	TGC AAA AAC ATC TTC AAG TCT CTG
	Проба М	FAM-TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA-TAMRA

Састав реакционе смеше за један узорак приказан је у Табели 13.

Табела 13. Реакциона смеша за *real-time* RT PCR протокол према Spackman-у за један узорак

Luna Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit	12,5 µl
Вода за PCR	6 µl
Fwd:M (50µM)	0,2 µl
Rev1:M (50µM)	0,2 µl
Проба М (50µM)	0,1 µl
ензим - реверзна транскриптаза	1 µl
Укупно	20 µl

Након припреме, реакционој смеши је додавано по 5 µl екстраховане РНК из узорака. Финална концентрација прајмера у PCR реакцији износила је 400 nM, а концентрација пробе 200 nM. Проба је означена бојом *FAM*.

Real-time RT PCR реакција за овај протокол је изведена на апарату *Applied Biosystems 7500 Fast* (САД) према температурном режиму приказаном у Табели 14.

Табела 14. Температурни режим за протокол за инфлуенцу

	Број понављања	Температура	Време
Реверзна транскрипција	1x	55 °C	10 минута
Почетна денатурација	1x	95 °C	1 минут
Денатурација РНК	45x	95 °C	10 секунди
Издуживање ланаца		60 °C	30 секунди

4.2.4.3.3. *Real-time* PCR протокол за детекцију генома PCV2

Real-time PCR протокол за утврђивање присуства генома PCV2 примењен је према процедури коју су описали Olvera и сар., 2004, уз коришћење одговарајућих прајмера и проба (Табела 15).

Табела 15. Редослед нуклеотида за прајмере и пробу за *real-time* PCR (Olvera и сар., 2004)

Протокол за <i>real-time</i> PCR	Прајмер/проба	Секвенце (5' - 3')
Olvera и сар., 2004	PCV2-F	CCAGGAGGGCGTTGTGACT
	PCV2-R	CGCTACCGTTGGAGAAGGAA
	PCV2-P	FAM-AATGGCATCTTCAACACCCGCCTCT-TAMRA

Састав реакционе смеше за један узорак приказан је у Табели 16.

Табела 16. Реакциона смеша за *real-time* PCR протокол према Olvera и сар., 2004. за један узорак

Brilliant III Ultra fast qPCR mastermix	12,5 µl
Вода за PCR	9 µl
PCV2-F	0,2 µl
PCV2-R	0,2 µl
PCV2-P	0,1 µl
Укупно	22 µl

Након припреме, реакционој смеши је додавано по 3 µl екстраховане ДНК из узорака. Финална концентрација прајмера у PCR реакцији износила је 400 nM, а концентрација пробе 200 nM. Проба је означена бојом *FAM*.

Real-time PCR реакција за овај протокол је изведена на апарату *Applied Biosystems 7500 Fast* (САД) према температурном режиму приказаном у Табели 17.

Табела 17. Температурни режим за протокол за вирус PCV2			
	Број понављања	Температура	Време
Активација полимеразе	1x	95 °C	3 минута
Денатурација ДНК	45x	95 °C	15 секунди
Везивање прајмера		60 °C	60 секунди

4.2.4.3.4. *Real-time* PCR протокол за детекцију генома *M. hyopneumoniae*

Real-time PCR протокол за утврђивање присуства генома *M. hyopneumoniae* примењен је према процедури коју су описали Strait и сар., 2008, уз коришћење одговарајућих прајмера и проба (Табела 18).

Табела 18. Редослед нуклеотида за прајмере и пробу за *real-time* PCR (Strait и сар., 2008)

Протокол за <i>real-time</i> PCR	Прајмер/проба	Секвенце (5' - 3')
Strait и сар., 2008	Mhp183-F	CCAGAACCAATTCCTTCGCTG
	Mhp183-R	ACTGGCTGAACCTCATCTGGGCTA

Mhp183-P	FAM- AGCAGATCTTAGTCAAAGTGCCCGTG- BHQ1
----------	---

Састав реакционе смеше за један узорак приказан је у Табели 19.

Табела 19. Реакциона смеша за *real-time* PCR протокол према Strait и сар., 2008. за један узорак

Brilliant III Ultra fast qPCR mastermix	12,5 µl
Вода за PCR	9 µl
Mhp183-F	0,2 µl
Mhp183-R	0,2 µl
Mhp183-P	0,1 µl
Укупно	22 µl

Након припреме, реакционој смеси је додавано по 3 µl екстраховане ДНК из узорака. Финална концентрација прајмера у PCR реакцији износила је 400 nM, а концентрација пробе 200 nM. Проба је означена бојом *FAM*.

Real-time PCR реакција за овај протокол је изведена на апарату *Applied Biosystems 7500 Fast* (САД) према температурном режиму приказаном у Табели 20.

Табела 20. Температурни режим за протокол за *M. hyopneumoniae*

	Број понављања	Температура	Време
Активација полимеразе	1x	95 °C	3 минута
Денатурација ДНК	45x	95 °C	15 секунди
Везивање прајмера		60 °C	60 секунди

4.2.5. Имунохистохемијска метода

У сврху имунохистохемијског испитивања коришћен је комерцијални кит за бојење *EnVision FLEX Mini Kit* (Dako, Данска). Од примарних антитела коришћени су моноклонско антитело за Т лимфоците (CD3, *monoclonal mouse anti-human F.7.2.38*; DAKO, Glostrup, Данска) и моноклонско антитело за В лимфоците (CD21, *monoclonal mouse anti-human Clone 1F8 ready to use*; DAKO Glostrup, Данска). Антитела показују унакрсну реактивност са одговарајућим антигенима код свиња, што омогућава њихову примену у имунохистохемијском испитивању ткива ове врсте.

За имунохистохемијско испитивање одабрани су репрезентативни узорци плућа и душника од 16 јединки (по 4 јединке из сваке од испитиваних категорија). Када су узорци плућа у питању, предност су имали узорци са израженим перибронхијалним и перибронхиоларним ћелијским инфилтратом. Комплетна имунохистохемијска метода, од припреме препарата до анализе добијених узорака, извршена је на Катедри за патологију Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду.

У ткивним исечцима је прво извршено демаскирање антигена коришћењем цитратног пуфера (pH 6,0) и загревањем у микроталасној пећници на 560 W у трајању од 21 минут, након чега је извршено хлађење на собној температури у текућој води, а затим испирање у дестилованој води. Потом је извршена припрема раствора за испирање – трис пуферовани слани раствор TBST (*EnVision FLEX Wash Buffer*). Да би се блокирала неспецифична везивања антитела за

тквивне протеине, вршено је наношење козјег серума у разређењу 1:50, а потом наношење примарног антитела, CD3 (разређење 1:50), односно CD21 (*ready to use*). Испирање је вршено два пута по 5 минута са TBST. Активност ендogene пероксидазе је блокирана инкубацијом узорка са *EnVision FLEX Peroxidase - Blocking Reagenty* у трајању од 30 минута. Након тога следило је испирање препарата са TBST, два пута по 5 минута и инкубација узорка са ензимом везаним за стрептавидин *Horse Radish* пероксидазу (HRP) (*EnVision FLEX HRP*) у трајању од 25 минута. Након инкубације, уследило је испирање препарата са TBST, два пута по 5 минута. Ради визуелизације антиген -антитело реакције, препарати су инкубирани са хромогеном (*FLEX DAB + Chromogen* растворен у *FLEX Substrate Buffer*):

Табела 21. Примарна антитела, разређење примарног антитела, услови инкубације примарног антитела и кит коришћени за детекцију у имунохистохемијском испитивању

Антитело	Произвођач	Разређење	Инкубација	Демаскирање антигена	Кит за детекцију
<i>Monoclonal mouse anti-human CD3</i>	DAKO	1:50	60 минута, собна температура	цитратни пуфер pH=6 / 560 W / 21 минут	<i>EnVision FLEX Mini Kit (Dako, Данска)</i>
<i>Monoclonal mouse anti-human CD21</i>	DAKO	Ready-to-use	60 минута, собна температура	цитратни пуфер pH=6 / 560 W / 21 минут	<i>EnVision FLEX Mini Kit (Dako, Данска)</i>

После инкубације са хромогеном у трајању од 1 до 5 минута, препарати су испирани дестилованом водом, а затим контрастирани у хематоксилину. На месту позитивне реакције јављао се прецепитат смеђе боје. Након контрастирања, препарати су испирани у води и на крају монтирани помоћу воденог медијума за монтирање *Glycergel-a*.

Током имунохистохемијског бојења за сва испирања коришћен је TBST, чији је pH био у граници између 7,2 и 7,4. Као позитивна контрола коришћен је препарат тонзила свиње у којем је очекивана позитивна реакција CD3 у Т-лимфоцитима и CD21 у В-лимфоцитима. Као негативна контрола коришћени су тквивни узорци плућа код којих је примарно антитело изостављено и замењено одговарајућим пуфером.

4.2.5.1. Семиквантитативна анализа

Семиквантитативна анализа подразумева визуелну процену интензитета и распрострањености бојења под микроскопом, по унапред дефинисаним критеријумима или скалама. Семиквантитативном анализом обухваћена је дистрибуција Т и В лимфоцита у плућима и душнику одабраних јединки.

Систем бодовања интензитета имунохистохемијске реакције прилагођен је потребама овог истраживања, уз модификацију сличних система бодовања описаних у литератури (Gibson-Corley и сар., 2013; Thomasmeyer и сар., 2023). Интензитет имунохистохемијске реакције је бодован на следећи начин:

- негативна (–);
- слабо позитивна (+), када је уочена једна позитивна ћелија по видном пољу на великом увећању;
- умерено позитивна (++), када је уочено две до пет позитивних ћелија по видном пољу;
- јако позитивна (+++), када је уочено више од пет позитивних ћелија по видном пољу на великом увећању (400×).

4.2.6. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података је обављена у статистичком програму SAS 9.3 (SAS Inst. Inc., 2002–2010). Избор метода за оцену и тестирање зависио је од структуре и природе података. Резултати истраживања су приказани табелама, фотографијама и микрофотографијама. Вредности у табелама су приказане у апсолутним јединицама (број јединки). Тестирање распореда фреквенција по категоријама, променама (патоанатомским и хистопатолошким) и узрочницима обављено је применом непараметарског χ^2 теста, на три нивоа значајности ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$). У циљу јаснијег сагледавања значајности, коришћена је и оригинална p вредност из *output*-а после статистичке обраде која је приказана на четири децимале. Корелације патоанатомских и хистопатолошких промена између органа утврђене су применом Пирсоновог коефицијента корелације и посматране на три нивоа значајности ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$).

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Резултати макроскопских испитивања

У току вршења обдукције угинуле прасади из производних категорија прасади на сиси, одгоја и предтова, као и приликом прегледа и узорковања циљаних органа од товљеника на линији клања, извршена је патоморфолошка процена установљених промена и формирана база патоанатомских налаза на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима.

5.1.1. Резултати макроскопских испитивања плућа

Учесталост установљених макроскопских промена на плућима, код испитиваних јединки различитих производних категорија, приказана је у Табели 22. Од укупног броја прегледаних јединки (n=182) налаз који одговара интерстицијалној пнеумонији представљао је најучесталију макроскопску промену на плућима и уочаен је код 34 јединке (PI, 34/182; 18,7%). Затим су по учесталости следиле хиперемија и едем плућа, код 24 јединке (НОЕР, 24/182; 13,2%) и налаз који одговара гнојној бронхопнеумонији код 23 (BPP, 23/182; 12,6%). Од прегледаних узорака 50 прасади на сиси, најзаступљеније макроскопске промене биле су оне које су карактеристичне за интерстицијалну пнеумонију и хиперемију плућа, свака код по 11 прасади (PI, 11/50; 22,0%; HP, 11/50; 22,0%), а затим хиперемија и едем плућа код 7 јединки (НОЕР, 7/50; 14,0%). Код 50 прасади у одгоју готово подједнако су биле заступљене промене које одговарају гнојној бронхопнеумонији, код 11 јединки (BPP, 11/50; 22,0%) и фибринозној бронхопнеумонији код 12 прасади (BPF, 12/50; 24,0%). Код прегледаних 30 прасади из категорије предтова, налаз карактеристичан за интерстицијалну пнеумонију био је доминантан код 12 јединки (PI, 12/30; 40,0%), при чему у овој категорији није било јединки без макроскопских промена на плућима (BO, 0/30). Насупрот томе, од 52 прегледана товљеника са линије клања, плућа од 43 јединке су била без видљивих макроскопских промена (BO, 43/52; 82,7%).

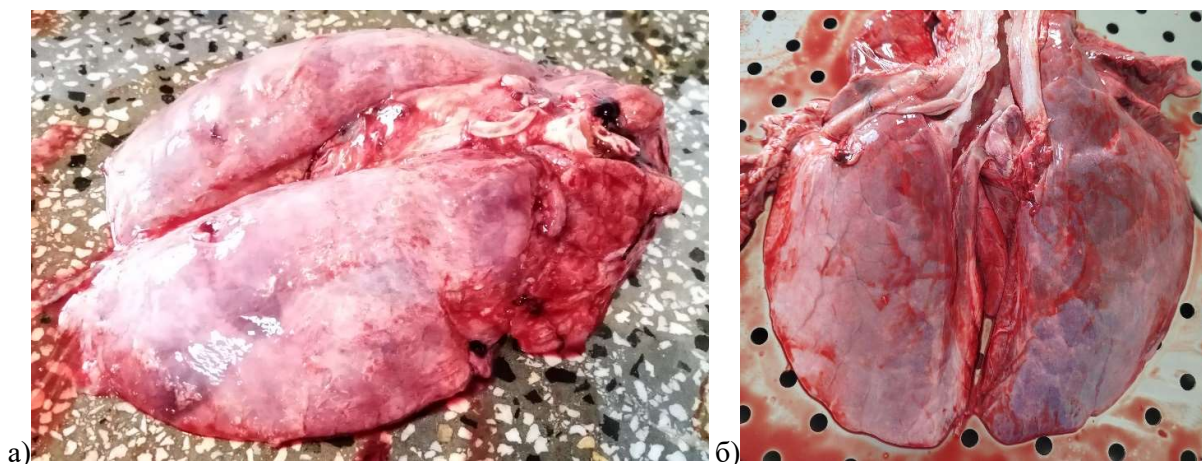
Табела 22. Учесталост установљених макроскопских промена на плућима

Орган	Патоанатомски налаз	n	Категорија			
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52
Плућа (n=182)	BO	60	12	5	0	43
	HP	20	11	2	4	3
	НОЕР	24	7	9	4	4
	PI	34	11	9	12	2
	BPP	23	6	11	6	0
	BPF	16	3	12	1	0
	PP	5	0	2	3	0

Легенда: BO – без промена; HP - *Hyperaemia pulmonum*; НОЕР - *Hyperaemia et oedema pulmonum*; PI - *Pneumonia interstitialis*; BPP - *Bronchopneumonia purulenta*; BPF - *Bronchopneumonia fibrinosa*; PP – *Pleuropneumonia*.

Хиперемија и едем плућа је макроскопски налаз који је најчешће забележен код угуинулих јединки из категорије одгоја и код прасади на сиси. Макроскопски, таква плућа су била увећана, сјајне површине, тупих рубова, услед појачане испуњености крвљу и течностима (Слика 1.) Боја је варијала од сиво-црвене до тамноцрвене, односно црвено-плаве, при чему је паренхим био дифузно или мозаично хиперемичан. Конзистенција плућног ткива била је повећана чврстине, а плућа су слабо или непотпуно колабирала након отварања грудне дупље. На пресеку се цедила већа количина бистре до благо замућене, серозне течности, понекад са примесама крви.

У бронхусима и душнику се углавном налазила велика количина пенасте течности беле до беличасто-црвене боје, која се при притиску на паренхим додатно изливала, дајући утисак изражене алвеоларне и интерстицијалне акумулације течности. Површина пресека била је влажна, сјајна и сочна, без јасно ограничених консолидационих жаришта, што је указивало на дифузну природу промена.



Слика 1. Макроскопски изглед плућа са хиперемијом и едемом: а) од прасади на сиси; б) од јединки из одгоја

Код јединки са интерстицијалном пнеумонијом, дифузно су били захваћени сви плућни лобуси, без јасно ограничених краниовентралних консолидација, што је давало утисак равномерне, генерализоване промене плућног паренхима. Плућа су била благо до умерено увећана, нису колабирала након отварања грудне дупље, задржавајући повећан волумен. На површини плућног ткива су се уочавали отисци ребара. Боја је варирала од светло црвене до сивкасто-црвене, док је површина била глатка и сјајна. Конзистенција је била чврсто-еластична до гумасти. На пресеку је плућно ткиво било влажно, са умереном количином бистре до благо замућене серозне течности. Паренхим је деловао уједначено збијен, уз проширене интерлобуларне септе које су биле наглашене и едематозне (Слика 2).



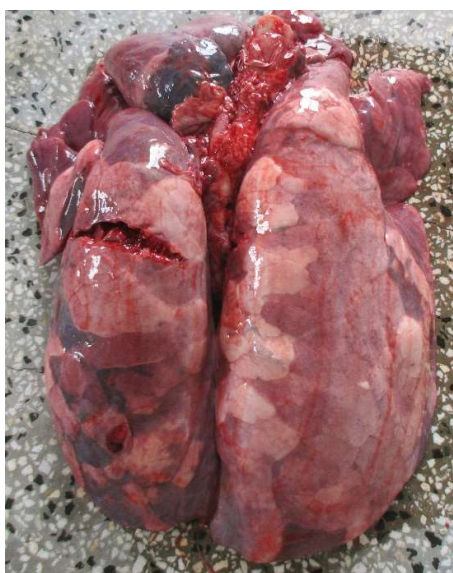
Слика 2. Макроскопски изглед плућа са интерстицијалном пнеумонијом: а) од јединки из одгоја; б) од јединки из предтова

Макроскопске промене код гнојне бронхопнеумоније су најчешће биле локализоване у краниовентралним деловима плућа, при чему су апикални, кардијачни и предњи делови дијафрагматских лобуса били захваћени процесом консолидације. Краниовентрална консолидација је била најкарактеристичнији и најранији макроскопски налаз за гнојну бронхопнеумонију, а захваћени делови плућа су били чврсти, збијени, тамноцрвене до сивкастоцрвене боје и нису колабирали (Слика 3). Површина пресека у тим регијама била је влажна, понекад са видљивим гнојним садржајем у бронхијама и бронхиолама.



Слика 3. Краниовентрална консолидација плућног паренхима, од јединке из предтова

У узнатредовалим случајевима, запажена је израженија консолидација и јаснија разграниченост појединих лобулуса, што је плућима давало мозаичан изглед. Услед наизменично захваћених и релативно очуваних лобулуса, таква плућа су попримала карактеристичан изглед „шаховске табле“ (Слика 4). На пресеку се из бронхијалног стабла и мањих дисајних путева цедио густ, жућкаст до жућкасто-зелен гнојни ексудат. Конзистенција захваћених делова била је чврста и хепатизована, док су незахваћени делови задржавали мекшу структуру.



а)



б)

Слика 4. Карактеристичан изглед „шаховске табле“ код гнојне бронхопнеумоније, од јединки из одгоја: а) спољашњи изглед плућа; б) пресек плућног паренхима

У тежим облицима, уочено је да су се промене шириле ка каудодорзалним деловима плућа, уз могуће присуство фибринозних наслага на поплућници са формирањем фибринозних прираслица са зидом грудне дупље. Делови плућног паренхима захваћени фибринозном пнеумонијом били су чврсти, збијени и хепатизовани, тамноцрвене до сивкастоцрвене боје, са израженим губитком аерације. На пресеку је ткиво било сувље него код гнојне бронхопнеумоније, а из бронхија се могао истиснути мањи садржај мутног ексудата са примесама фибрина. Посебно упадљив налаз представљало је накупљање жућкастих до жуто-сивих фибринских наслага на поплућници, које су плућима давале храпав изглед (Слика 5а). У акутним случајевима, фибрин је био мек, влажан и лако се одвајао, док је у субакутним и хроничним облицима постајао организован, чвршћи и повезан са површином плеуре. Као последица организовања фибрина уочено је стварање плеуралних прираслица различитог обима, од танких фибринских трака до масивних, чврстих адхезија између плућа и зида грудне дупље или дијафрагме (Слика 5б).



а) б)
Слика 5. Фибринозна бронхопнеумонија, од јединки из одгоја: а) фибринске насlage на поплућници; б) фибринске насlage на поребрици

У најтежим случајевима уочена је фибринозна плеуропнеумонија, при чему су лезије обухватале и плућни паренхим и плеуру, са могућим присуством серофибринозног или фибринозно-хеморагичног излива у грудној дупљи.

5.1.2. Резултати макроскопских испитивања душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова

Учесталост установљених макроскопских промена на душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима, код испитиваних јединки различитих производних категорија, приказана је у Табели 23.

Од укупног броја прегледане прасади, код 168 јединки нису установљене видљиве патолошке промене на душнику (ВО, 168/182; 92,3%). Хиперемија душника утврђена је код 10 јединки (НТР, 10/182; 5,5%), нешто чешће у фази одгоја (n=5), док је катарални трахеитис забележен у 4 случаја и то код прасади у одгоју (TRC, 4/50; 8,0%).

Код тонзила, такође, доминира налаз без видљивих макроскопских промена код 94 од укупно 130 прегледаних узорака (ВО, 94/130; 72,3%). Макроскопски манифестно запаљење тонзила било је најзаступљеније у категорији одгоја – код 12 од прегледаних 50 узорака ткива (TON, 12/50; 24,0%), затим у предтову - код 5 од прегледаних 30 узорака ткива (TON, 5/30; 16,7%) и код прасади на сиси – код 7 од прегледаних 50 узорака ткива (TON, 7/50; 14,0%).

Запаљење трахеобронхалних лимфних чворова најчешће је забележено код јединки у фази предтова и то код 12 од прегледаних 30 узорака ткива (LDTB, 12/30; 40,0%), затим у фази одгоја код 16 од прегледаних 50 узорака ткива (LDTB, 16/50; 32,0%) и код прасади на сиси код 13 од прегледаних 50 узорака ткива (LDTB, 13/50; 26,0%).

Табела 23. Учесталост установљених макроскопских промена на душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима

Орган	Патоанатомски налаз	n	Категорија			
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52
Душник (n=182)	BO	168	47	41	29	51
	HTR	10	3	5	1	1
	TRC	4	0	4	0	0
Тонзиле (n=130)	BO	94	38	32	24	0
	HTON	8	4	3	1	0
	TON	24	7	12	5	0
	TONH	4	1	3	0	0
Трахеобронх. лимфни чвор (n=182)	BO	132	37	30	16	49
	LDTB	44	13	16	12	3
	LDTBH	6	0	4	2	0

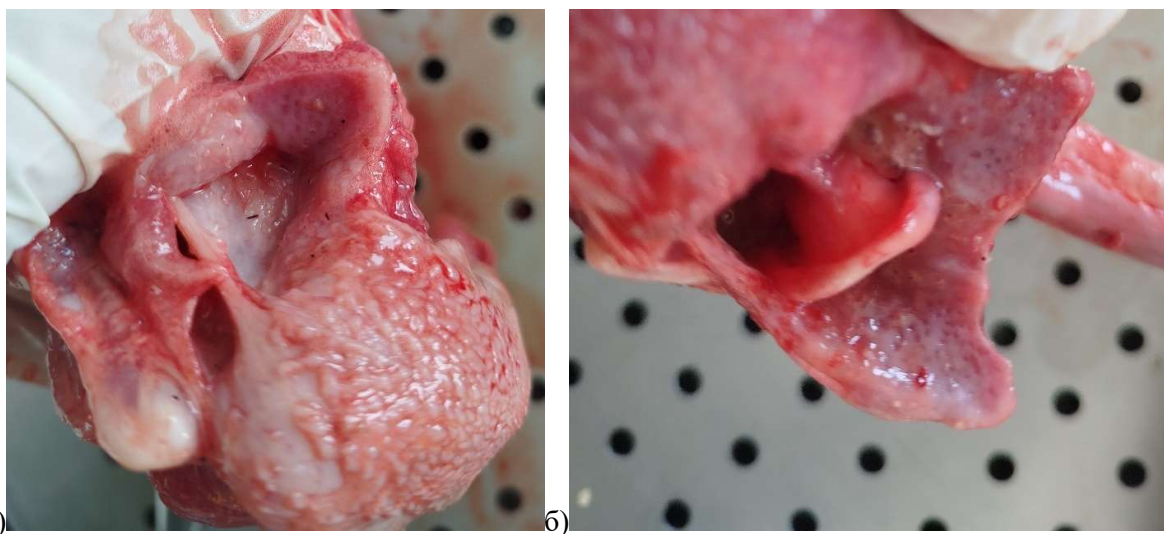
Легенда: BO – без промена; HTR - *Hyperaemia tracheae*; TRC - *Tracheitis catharalis*; HTON - *Hyperaemia tonsilae*; TON - *Tonsilitis*; TONH - *Tonsilitis haemorrhagica*; LDTB - *Lymphadenitis tracheobronchalis*; LDTBH - *Lymphadenitis tracheobronchalis haemorrhagica*.

Макроскопски налаз на душнику испитаних јединки варирао је од уредног налаза без видљивих промена до изражених инфламаторних промена. Душник без промена се одликовао глатком слузницом светло розе боје, умерене влажности, без задебљања, наслага или присуства ексудата у лумену. Прстенови хрскавице су били јасно уочљиви, а лумен проходан и чист (Слика 6а). Код хиперемije душника, слузница је била интензивно црвене до тамно црвене боје, често благо отечена и сјајна, али без значајнијег накупљања садржаја у лумену. Катарални трахеитис се карактерисао дифузним црвенилом и едемом слузнице душника, која је притом била и едематозна и прекривена провидним до мутним, пенасто-слузавим ексудатом (Слика 6б). У случају израженог едема плућа, лумен душника је био испуњен већом количином пенушаве, беличасте до беличasto-ружичасте течност-слузаве масе, настале мешањем слузи, серозног ексудата и ваздуха.

Тонзиле без макроскопских промена су биле светло розе боје, глатке површине, без отока и наслага (Слика 7а). Код хиперемije тонзила уочавано је интензивније црвенило слузнице. Хиперемичне тонзиле су биле благо увећане и сочније конзистенције, али без значајног ексудата у криптама и на површини. Тонзилитис се макроскопски испољавао увећањем и отоком тонзила, које су биле јарко црвене до тамно црвене боје, често прекривене замућеним слузавим или гнојним ексудатом (Слика 7б). Код хеморагичног тонзилитиса тонзиле су биле изразитије увећане, тамно црвене до љубичасте боје, са видљивим тачкастим или мрљастим крвављењима по површини и унутар ткива.



Слика 6. Макроскопски налаз на душнику: а) без промена; б) катарални трахеитис



Слика 7. Макроскопски налаз на тонзилама: а) без промена; б) тонзилитис

Трахеобронхални лимфни чворови без макроскопских промена су били овалног до благо издуженог облика, уредне величине у складу са узрастом, глатких површина, меко-еластичне конзистенције, светло сиве до сиво-ружичасте боје на пресеку, са јасно разграниченом кортикалном и медуларном зоном. Код лимфаденитиса, трахеобронхални лимфни чворови су били увећани, заобљеног изгледа и чвршће конзистенције. Капсула је била благо напета, а ткиво на пресеку сочнијег изгледа, сиво-црвене боје. Код хеморагичног лимфаденитиса лимфни чворови су били изразито увећани, тамно црвене до љубичасте боје, са видљивим тачкастим или мрљастим крвављењима испод капсуле и на пресеку.

5.1.3. Статистичка анализа установљених макроскопских промена

Учесталост установљених патоанатомских промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима унутар и између испитиваних производних категорија, са добијеним припадајућим р вредностима, приказана је у Табели 24.

Статистички високо значајна разлика у учесталости промена између испитиваних категорија утврђена је за плућа ($p < 0,0001$). Највећи број прегледаних плућа без макроскопских промена забележен је код товљеника (ВО, 43/52; 82,7%), док су инфламаторне лезије биле учесталије код млађих категорија. Интерстицијална пнеумонија је доминирала у категорији предтова (PI, 12/30; 40,0%) и код прасади на сиси (PI, 11/50; 22,0%), гнојна бронхопнеумонија у категоријама одгоја (BPP, 11/50; 22,0%) и предтова (BPP, 6/30; 20,0%), а фибринозна бронхопнеумонија била је доминантна у категорији одгоја (BPF, 12/50; 24,0%).

Постојање статистичке разлике утврђено је код макроскопских промена на душнику унутар и између испитиваних производних категорија ($p = 0,0224$). Иако је највећи број налаза био без макроскопских промена на душнику (ВО, 168/182; 92,3%), хиперемеја душника је била нешто учесталија у категоријама одгоја (HTR, 5/50; 10,0%) и прасади на сиси (HTR, 3/50; 6,0%), док је катарални трахеитис забележен само код испитиваних јединки из одгоја (TRC, 4/50; 8,0%). Није утврђено постојање статистички значајне разлике унутар и између испитиваних категорија за макроскопске промене на тонзилама ($p = 0,4929$). Иако је запаљење тонзила било најучесталије у одгоју (TON, 12/50; 24,0%), варијације између категорија нису достигле ниво статистичке значајности.

Статистички веома значајна разлика утврђена је поређењем макроскопских промена на трахеобронхалним лимфним чворовима унутар и између испитиваних категорија ($p = 0,0003$). Лимфаденитис је био најзаступљенији у категоријама предтова (LDTB, 12/30; 40,0%) и одгоја (LDTB, 16/50; 32,0%), док је у категорији товљеника доминирао налаз без промена (ВО, 49/52; 94,2%).

Табела 24. Учесталост патоанатомских промена унутар и између испитиваних категорија

Орган	Патоанатомски налаз	n	Категорија				р вредност
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52	
Плућа (n=182)	ВО	60	12	5	0	43	<0,0001
	HP	20	11	2	4	3	
	HOEP	24	7	9	4	4	
	PI	34	11	9	12	2	
	BPP	23	6	11	6	0	
	BPF	16	3	12	1	0	
	PP	5	0	2	3	0	
Душник (n=182)	ВО	168	47	41	29	51	0,0224
	HTR	10	3	5	1	1	
	TRC	4	0	4	0	0	
Тонзиле (n=130)	ВО	94	38	32	24	0	0,4929
	HTON	8	4	3	1	0	
	TON	24	7	12	5	0	
	TONH	4	1	3	0	0	
Трахеобронх. лимфни чвор (n=182)	ВО	132	37	30	16	49	0,0003
	LDTB	44	13	16	12	3	
	LDTBH	6	0	4	2	0	

Легенда: ВО – без промена; НР - *Hyperaemia pulmonum*; НОЕР - *Hyperaemia et oedema pulmonum*; PI - *Pneumonia interstitialis*; BPP - *Bronchopneumonia purulenta*; BPF - *Bronchopneumonia fibrinosa*; PP – *Pleuropneumonia*; HTR - *Hyperaemia tracheae*; TRC - *Tracheitis catharalis*; HTON - *Hyperaemia tonsillae*; TON - *Tonsillitis*; TONH - *Tonsillitis haemorrhagica*; LDTB - *Lymphadenitis tracheobronchialis*; LDTBH - *Lymphadenitis tracheobronchialis haemorrhagica*.

У Табели 25. приказане су корелације између патоанатомских промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима, у односу на укупан број испитаних узорака из свих производних категорија.

Утврђена је статистички значајна позитивна корелација између промена на плућима и душнику ($r=0,20$; $p<0,01$), као и између промена на плућима и тонзилама ($r=0,22$; $p<0,05$). Најјача корелација забележена је између промена на плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима ($r=0,41$; $p<0,001$), што представља умерену позитивну повезаност.

Између промена на тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима такође је утврђена статистички високо значајна позитивна корелација ($r=0,39$; $p<0,001$), умерене јачине.

Насупрот томе, корелације између промена на душнику и тонзилама ($r=0,00$) и између душника и трахеобронхалних лимфних чворова ($r=0,10$) нису биле статистички значајне ($p>0,05$).

Табела 25. Корелације патоанатомских промена

	Плућа (n=182)	Душник (n=182)	Тонзиле (n=130)	Трахеобронх. л.ч. (n=182)
Плућа (n=182)	-	$r = 0,20^{**}$	$r = 0,22^{*}$	$r = 0,41^{***}$
Душник (n=182)	-	-	$r = 0,00^{ns}$	$r = 0,10^{ns}$
Тонзиле (n=130)	-	-	-	$r = 0,39^{***}$
Трахеобронх. л.ч. (n=182)	-	-	-	-

Легенда: r – коефицијент корелације; ns – статистички није значајно; * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

5.2. Резултати микроскопских испитивања

Систематичном хистопатолошком анализом одабраних узорака ткива испитиваних јединки, формирана је база хистопатолошких налаза на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима.

5.2.1. Резултати микроскопских испитивања плућа

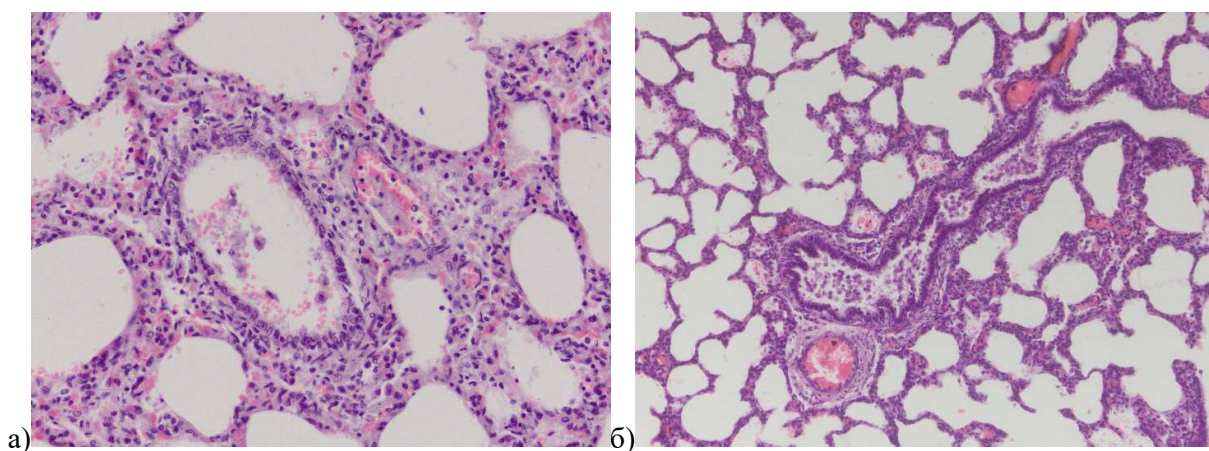
Учесталост установљених микроскопских промена на плућима код испитиваних јединки различитих производних категорија приказана је у Табели 26. У производним фазама прасади на сиси, одгоју и предтову доминирао је налаз наглашеног интерстицијума, бронхиолитиса и перибронхиолитиса (NINT/BL/PBL, 12/50; 24,0%, 6/50; 12,0% и 8/30; 26,7%) и интерстицијалне пнеумоније (PI, 10/50; 20,0%, 6/50; 12,0% и 8/30; 26,7%). У производној фази одгоја најзаступљенији је био налаз мешовите форме бронхоинтерстицијалне пнеумоније, која је забележена код 11 од укупно прегледаних 50 јединки (BIP, 11/50; 22,0%). У категорији това, од укупно прегледана 52 узорка, наглашени плућни интерстицијум са бронхијалним и перибронхијалним инфилтратом (NINT/BL/PBL) је забележен код 5 јединки (9,6%), док је интерстицијална пнеумонија (PI) доказана у 3 случаја (5,8%).

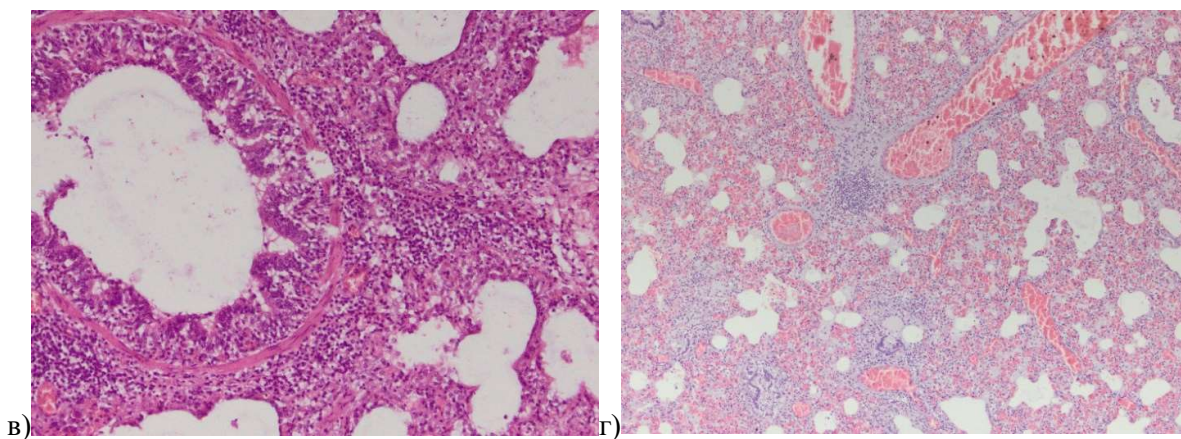
Табела 26. Учесталост установљених микроскопских промена на плућима

Орган	Хистопатолошки налаз	n	Категорија			
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52
Плућа (n=182)	ВО	68	16	5	4	43
	НОЕР	11	3	7	1	0
	НЕМ	5	0	4	0	1
	NINT/BL/PBL	31	12	6	8	5
	PI	27	10	6	8	3
	BPP	13	4	6	3	0
	BPF	9	1	5	3	0
	BIP	18	4	11	3	0

Легенда: ВО – без промена; НОЕР - *Hyperaemia et oedema pulmonum*; НЕМ - *Haemorrhagiae pulmonum*; NINT/BL/PBL - *Interstitium pulmonum intensum/ Bronchiolitis/Peribronchiolitis*; PI - *Pneumonia interstitialis*; BPP - *Bronchopneumonia purulenta*; BPF - *Bronchopneumonia fibrinosa*; BIP - *Pneumonia bronchointerstitialis*.

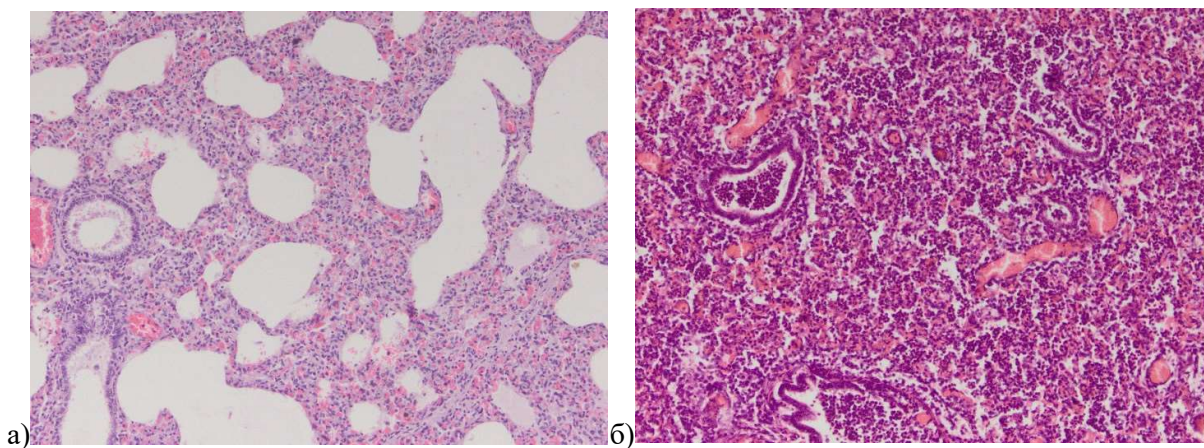
Код јединки са наглашеним плућним интерстицијумом, бронхиолитисом и перибронхиолитисом, хистопатолошки налаз се карактерисао израженим задебљањем интералвеоларних септи, услед едема и инфилтрације инфламаторним ћелијама, превасходно лимфоцитима, макрофагима и мањим бројем плазма ћелија. У оваквим случајевима, интерстицијум је био проширен, са компресијом алвеоларних простора и делимичним смањењем њиховог лумена. Бронхиоле су показивале знаке запаљења (Слика 8а) у виду дегенерације и десквације епитела (Слика 8б), хиперплазије епителних ћелија и присуства инфламаторног инфилтрата у зиду и лумену. Перибронхиоларно су се уочавали концентрично распоређени инфилтрати мононуклеарних ћелија, који су у неким случајевима доводили до задебљања зидова дисајних путева и сужења њиховог лумена (Слика 8в.) У појединим случајевима присутна је била и хиперплазија перибронхиоларног лимфоидног ткива (BALT), што може указивати на локални имунски одговор. Случај појачане инфилтрације интерстицијума мононуклеарним ћелијама, уз истовремено изражена интерстицијална крвављења, приказан је на Слици 8г. У свим наведеним случајевима, алвеоларни простори су садржали мању количину серозног или ћелијског ексудата, али су доминантне промене биле интерстицијална и перибронхиоларна инфламација.





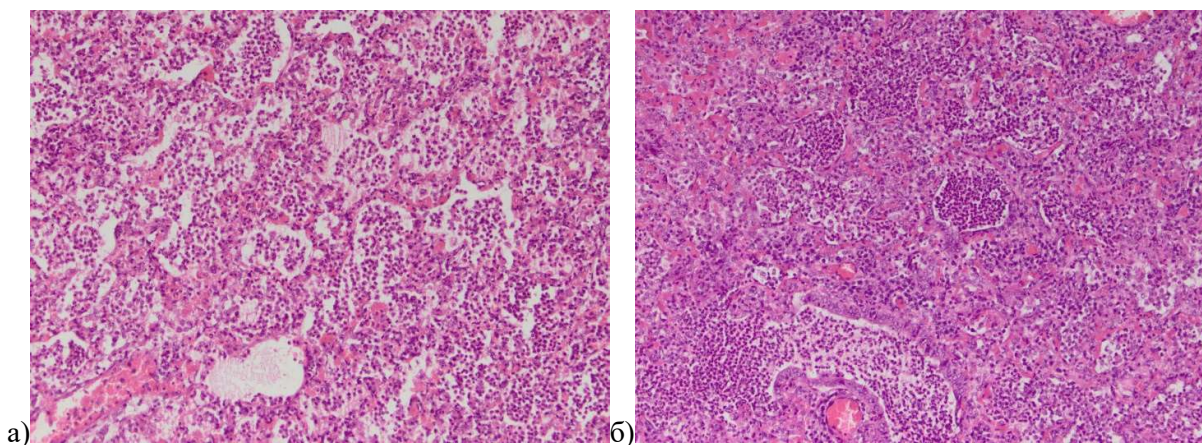
Слика 8. Микроскопски налази на плућима: а) бронхиолитис, НЕ x 40; б) десквамативни бронхиолитис, НЕ x 20; в) перибронхијални лимфоцитни инфилтрат, НЕ x 20; г) мононуклеарна инфилтрација интерстицијума и крвављења, НЕ x 10.

Хистопатолошки налаз интерстицијалне пнеумоније се одликовао дифузним задебљањем алвеоларних септи услед едема и изражене инфилтрације мононуклеарним ћелијама, пре свега лимфоцитима и макрофагима (Слика 9а). Код акутних случајева уочена је хиперплазија пнеумоцита типа II, са редукцијом алвеоларног лумена и задебљањем алвеоларних зидова. У лумену алвеола су биле присутне десквамисане епителне ћелије и алвеоларни макрофаги. У продуженом току интерстицијалне пнеумоније забележена је израженија акумулација мононуклеарних ћелија у интерстицијуму, перзистентне хиперплазије пнеумоцита типа II, хиперплазије перибронхијалног лимфоидног ткива и развој интерстицијалне фиброзе, што је додатно доприносило редукцији респираторне површине. На Сlici 9б приказана је интерстицијална пнеумонија са истовременим присуством елемената гнојног запаљења – *Pneumonia interstitialis partim purulenta*.



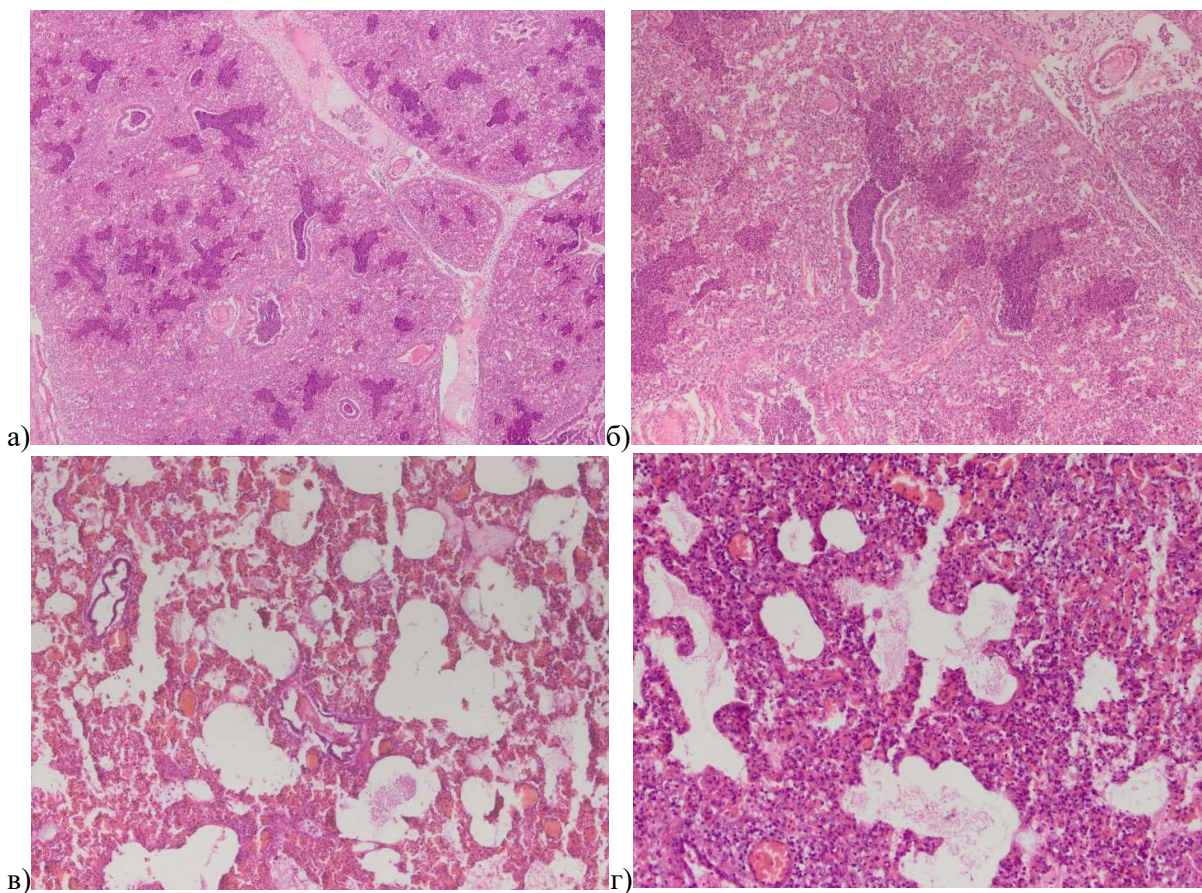
Слика 9. Микроскопски налаз интерстицијалне пнеумоније: а) интерстицијална пнеумонија, НЕx20; б) интерстицијална пнеумонија са истовременим присуством елемената гнојног запаљења, НЕx20.

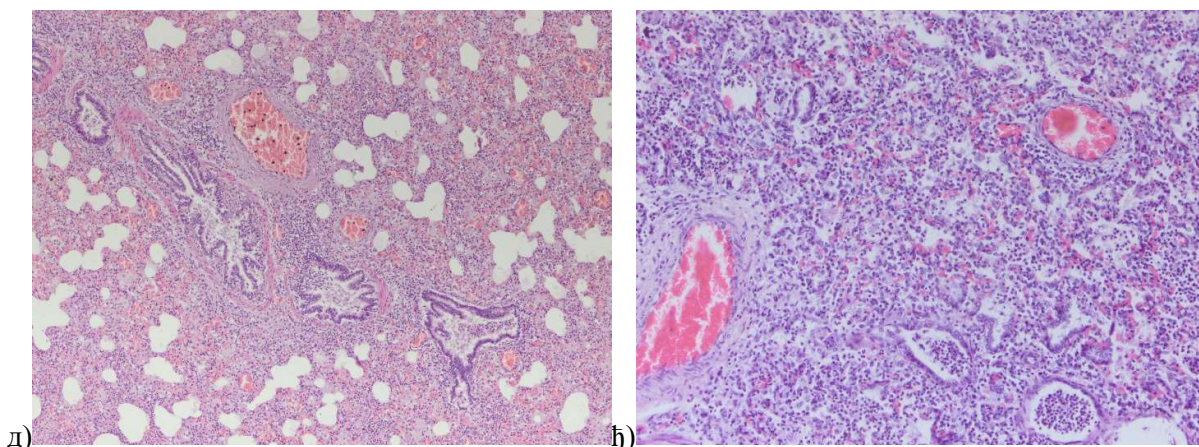
Код плућа захваћених гнојном бронхопнеумонијом, микроскопским прегледом запажени су бројни неутрофилни гранулоцити, макрофаги и десквамисане ћелије у алвеолама (Слика 10а и 10б), који су у екстремним случајевима у потпуности облитерисале лумен бронхуса, бронхиола и алвеола, уз присутну хиперплазију локалног лимфатичног ткива (Слика 11а и 11б).



Слика 10. Микроскопски изглед гнојне бронхопнеумоније: а) гнојна бронхопнеумонија, код јединке из одгоја, НЕх20; б) гнојна бронхопнеумонија, код јединке из предтова, НЕх20.

Микроскопском анализом исечака ткива плућа са фибринозном бронхопнеумонијом установљено је накупљање фибрина у бронхоалвеоларним просторима (Слика 11в и 11г). У 18 од 182 прегледана узорка плућа биле су истовремено присутне и морфолошке карактеристике бронхопнеумоније и интерстицијалне пнеумоније, што је класификовано као бронхоинтерстицијална пнеумонија (Слика 11д и 11ђ).





д) Слика 11. Микроскопски налази на плућима: а) облитеришући бронхиолитис HEX10; б) облитеришући бронхиолитис HEX20; в) фибринозна бронхопнеумонија HEX10; г) фибринозна бронхопнеумонија HEX20; д) бронеинтерстицијална пнеумонија HEX10; ђ) бронеинтерстицијална пнеумонија HEX20.

5.2.2. Резултати микроскопских испитивања душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова

Учесталост установљених микроскопских промена на душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима код испитиваних јединки различитих производних категорија приказана је у Табели 27.

Изузимајући категорију това (n=52), у којој су промене на душнику забележене код једне јединке (BO, 51/52; 98,1%), као доминантна хистолошка лезија на душнику утврђен је катарални десквамативни трахеитис, са највећом заступљеношћу у категорији одгоја, код 19 јединки (TRCD, 19/50; 38,0%), затим у категорији предтова, код 11 јединки (TRCD, 11/30; 36,7%) и код 12 прасади на сиси (TRCD, 12/50; 24,0%). Катарални трахеитис (TRC) и муцинозни катарални трахеитис (TRCM) најчешће су били забележени код прасади у категорији одгоја (7/50; 14,0%).

На тонзилама је најчешћи хистопатолошки налаз био тонзилитис, који је био најзаступљенији у фази одгоја (TON, 14/50; 28,0%) и код прасади на сиси (TON, 12/50; 24,0%), док је у категорији предтова утврђен у мањем проценту (TON, 3/30; 10,0%), а код товљеника није забележен. Хиперемија тонзила најчешће је уочена у категорији одгоја (HIP, 9/50; 18,0%). Ерозивни тонзилитис (TONE) је у категоријама одгоја и предтова био заступљен са 8,0% (4/50), односно 13,3% (4/30). Деплеција лимфних фоликула тонзила забележена је у 5 од 50 испитаних јединки из категорије одгоја (DLF, 5/50; 10,0%).

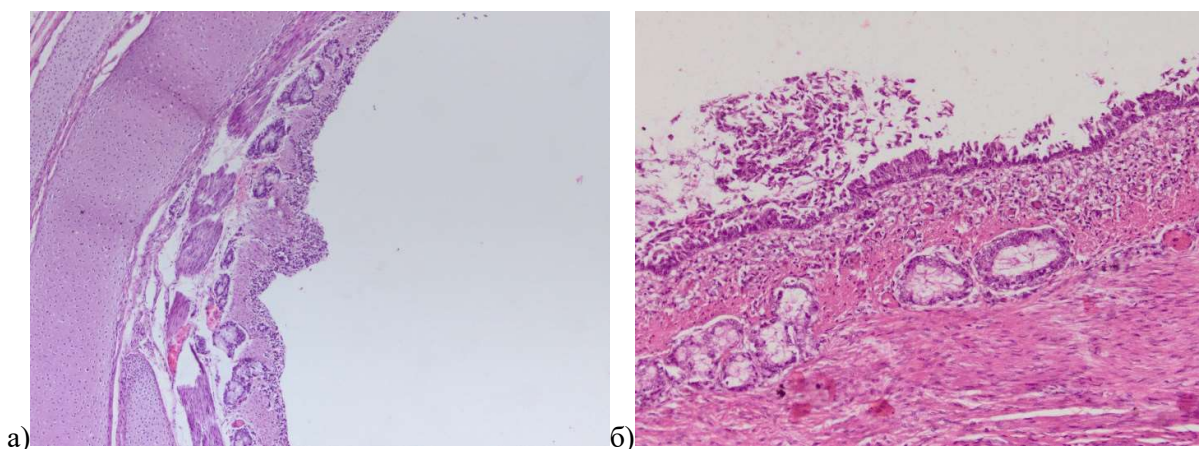
Хистолошке промене на трахеобронхалним лимфним чворовима најчешће су се испољавале у форми реактивног лимфаденитиса. Највећа учесталост је утврђена у категорији предтова (LDR, 19/30; 63,3%), затим код прасади на сиси (LDR, 22/50; 44,0%) и у одгоју (LDR, 20/50; 40,0%), док је у тову реактивни лимфаденитис забележен само у једном случају (LDR, 1/52; 1,9%).

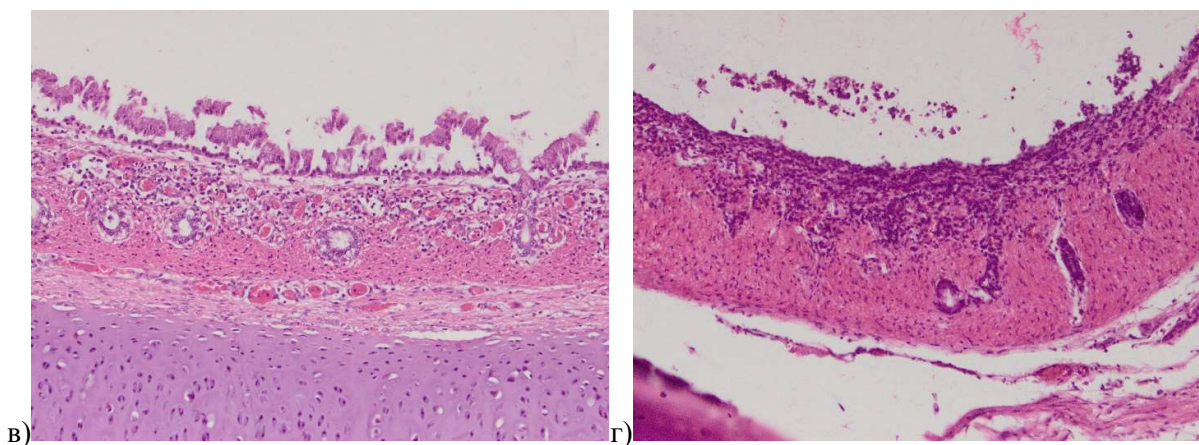
Табела 27. Учесталост установљених микроскопских промена на душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима

Орган	Хистопатолошки налаз	n	Категорија			
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52
Душник (n=182)	BO	119	35	17	16	51
	TRC	12	3	7	2	0
	TRCD	43	12	19	11	1
	TRCM	8	0	7	1	0
Тонзиле (n=130)	BO	63	30	18	15	0
	HIP	18	5	9	4	0
	TON	29	12	14	3	0
	TONE	10	2	4	4	0
	LHIP	4	1	0	3	0
	DLF	6	0	5	1	0
Трахеобронх. лимфни чвор (n=182)	BO	68	13	8	2	45
	HIP	26	7	13	6	0
	LHIP	11	3	1	2	5
	DLF	11	3	6	1	1
	LDR	62	22	20	19	1
	LDH	4	2	2	0	0

Легенда: BO – без промена; TRC – *Tracheitis catharalis*; TRCD – *Tracheitis catharalis desquamativa*; TRCM – *Tracheitis catharalis mucinosa*; HIP – *Hyperemia*; TON – *Tonsilitis*; TONE – *Tonsillitis erosiva*; LHIP – *Hyperplasia lymphoidea*; DLF – *Depletio folliculorum lymphaticorum*; LDR – *Lymphadenitis reactiva*; LDH – *Lymphadenitis haemorrhagica*.

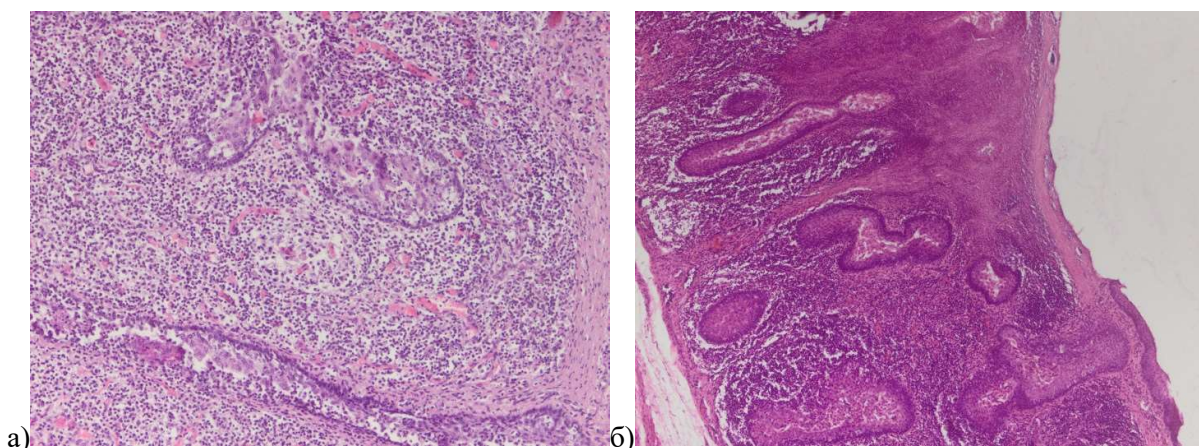
Запаљење слузнице душника уочено је у форми катаралног трахеитиса, који се хистолошки карактерисао умереном хиперплазијом површинског епитела, појачаном продукцијом слузи и присуством лимфоцита и појединачних неутрофилних гранулоцита у *lamina propria* (Слика 12а). Код десквамативног трахеитиса уочавана је ерозија и местимична десквамација површинског епитела, са бројним десквамисаним епителним ћелијама и инфламаторним ћелијама у лумену душника, док је субепително био присутан израженији лимфоцитно-макрофагни инфилтрат (Слика 12б, 12в и 12г). Муцинозни трахеитис одликовао се хиперплазијом пехарастих ћелија и субмукозних жлезда, са повећаним накупљањем муцинозног садржаја у лумену.

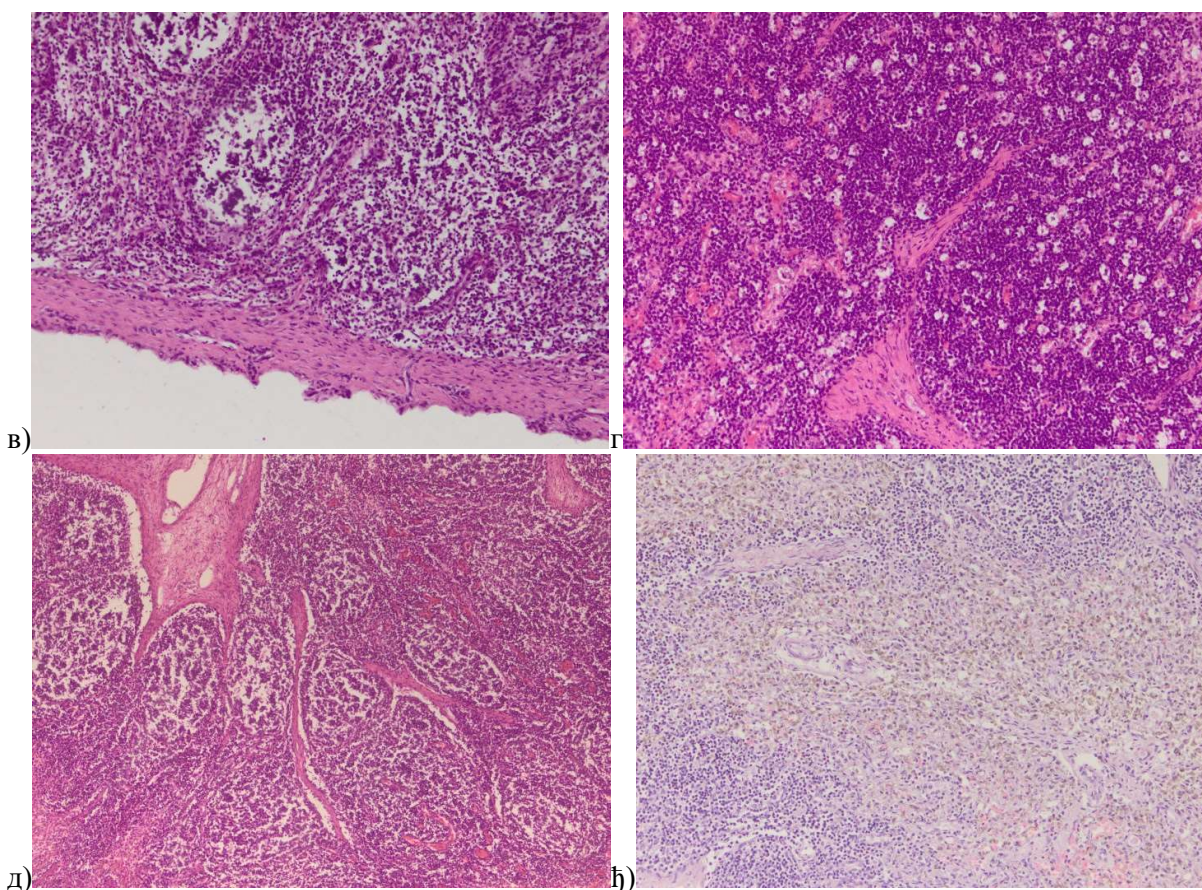




Слика 12. Микроскопске промене на душнику: а) катарални трахеитис, прасад на сиси, НЕх20; б) катарални десквамативни трахеитис, прасад на сиси, НЕх20; в) катарални десквамативни трахеитис, одгој, НЕх20; г) катарални десквамативни трахеитис, предтов, НЕх20.

Хистолошки налаз тонзилитиса карактерисао се различитим степеном лимфоидне хиперплазије, проширењем герминативних центара и присуством мешовитог инфламаторног инфилтрата у епителу, субепителној зони и криптама (Слика 13а), где је често уочаван ћелијски детритус, а у тежим случајевима и некротична жаришта (Слика 13б). Код ерозивног тонзилитиса запажане су површинске ерозије или улцерације епитела, са интензивнијом инфилтрацијом неутрофилних гранулоцита и формирањем фибринозно-гнојних наслага. Лимфоидна хиперплазија тонзила испољавала се повећањем и умножавањем лимфних фоликула са израженим герминативним центрима. Насупрот томе, деплеција лимфоидних фоликула карактерисала се редукцијом лимфоцитне популације, смањењем или одсуством герминативних центара и присуством ретикуларних ћелија и макрофага (Слика 13в). Реактивни лимфаденитис трахеобронхалних лимфних чворова карактерисао се повећаном васкуларизацијом, израженом хиперцелуларношћу и проширењем паракортикалних зона, уз хиперплазију лимфних фоликула са наглашеним герминативним центрима (Слика 13г). Архитектура лимфног чвора била је очувана, али са појачаном пролиферацијом лимфоцита и макрофага. Хеморагични лимфаденитис одликовао се присуством екстравазације еритроцита у синусима и паренхиму чвора, уз пратећи инфламаторни инфилтрат и могућу некрозу појединих подручја. Лимфоидна хиперплазија лимфног чвора испољавала се увећањем и умножавањем секундарних фоликула, док је деплеција лимфоидних фоликула подразумевала редукцију лимфоцитне масе, смањење или одсуство герминативних центара и појачано присуство макрофага (Слика 13д), а у хроничним случајевима је била праћена фиброзом строме (Слика 13ђ).





Слика 13. Микроскопске промене на тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима: а) тонзилитис, прасад на сиси, HEx20; б) некротични тонзилитис, одгој, HEx10; в) деплеција лимфоидних фоликула у тонзилама, одгој, HEx20; г) реактивни лимфаденитис, предтов, HEx20; д) деплеција лимфоидних фоликула у лимфном чвору, одгој, HEx20; ж) хемосидероза и фиброза у лимфном чвору, одгој, HEx20.

5.2.3. Статистичка анализа установљених микроскопских промена

Учесталост установљених хистопатолошких промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима унутар и између испитиваних производних категорија, са добијеним припадајућим p вредностима, приказана је у Табели 28.

Статистички високо значајна разлика у учесталости хистопатолошких промена унутар и између испитиваних категорија утврђена је за плућа ($p < 0,0001$). Највећи број плућа без микроскопских промена забележен је у категорији това (BO, 43/52; 82,7%). Интерстицијална пнеумонија је доминирала у категоријама предтова (PI, 8/30; 26,7%) и прасади на сиси (PI, 10/50; 20,0%), док је у одгоју била нешто ређа (PI, 6/50; 12,0%), а код товљеника спорадична (PI, 3/52; 5,8%). Гнојна бронхопнеумонија је била најзаступљенија у одгоју (BPP, 6/50; 12,0%). Фибринозна бронхопнеумонија (BPF) и бронхоинтерстицијална пнеумонија (BIP) најчешће су установљене у одгоју и предтову, док у категорији това нису установљене.

Постојање статистички високо значајне разлике утврђено је у учесталости хистопатолошких налаза на душнику унутар и између испитиваних категорија ($p < 0,0001$). Катарални десквамативни трахеитис био је најзаступљенији у одгоју (TRCD, 19/50; 38,0%) и предтову (TRCD, 11/30; 36,7%), док је у тову регистрован само у једном испитаном случају (TRCD, 1/52; 1,9%).

Статистичком анализом установљених хистопатолошких промена на тонзилама, утврђено је постојање статистичке разлике између испитиваних категорија ($p=0,0206$). Тонзилитис је био најзаступљенији у одгоју (TON, 14/50; 28,0%), нешто ређи код прасади на сиси (TON, 12/50; 24,0%), док је у предтову био спорадичан (TON, 3/30; 10,0%). Деплеција лимфоидних фоликула у тонзилама је најчешће била забележена у категорији одгоја (DLF, 5/50; 10,0%).

Статистичком анализом установљених хистопатолошких промена на трахеобронхалним лимфним чворовима, утврђено је постојање високо значајне статистичке разлике између испитиваних категорија ($p<0,0001$). Реактивни лимфаденитис је био доминантан микроскопски налаз у категоријама предтова (LDR, 19/30; 63,3%), прасади на сиси (LDR, 22/50; 44,0%) и одгоја (LDR, 20/50; 40,0%), док је код товљеника регистрован само у једном случају (LDR, 1/52; 1,9%). Деплеција лимфоидних фоликула у трахеобронхалним лимфним чворовима је најчешће забележена у категорији одгоја (DLF, 6/50; 12,0%).

Табела 28. Учесталост хистопатолошких промена унутар и између испитиваних категорија

Орган	Хистопатолошки налаз	n	Категорија				p вредност
			прасад на сиси n=50	одгој n=50	предтов n=30	тов n=52	
Плућа (n=182)	BO	68	16	5	4	43	<0,0001
	HOEP	11	3	7	1	0	
	HEM	5	0	4	0	1	
	NINT/BL/PBL	31	12	6	8	5	
	PI	27	10	6	8	3	
	BPP	13	4	6	3	0	
	BPF	9	1	5	3	0	
	BIP	18	4	11	3	0	
Душник (n=182)	BO	119	35	17	16	51	<0,0001
	TRC	12	3	7	2	0	
	TRCD	43	12	19	11	1	
	TRCM	8	0	7	1	0	
Тонзиле (n=130)	BO	63	30	18	15	0	0,0206
	HIP	18	5	9	4	0	
	TON	29	12	14	3	0	
	TONE	10	2	4	4	0	
	LHIP	4	1	0	3	0	
	DLF	6	0	5	1	0	
Трахеобронх. лимфни чвор (n=182)	BO	68	13	8	2	45	<0,0001
	HIP	26	7	13	6	0	
	LHIP	11	3	1	2	5	
	DLF	11	3	6	1	1	
	LDR	62	22	20	19	1	
	LDH	4	2	2	0	0	

Легенда: BO – без промена; HOEP - *Hyperaemia et oedema pulmonum*; HEM - *Haemorrhagiae pulmonum*; NINT/BL/PBL - *Interstitium pulmonum intensum/ Bronchiolitis/Peribronchiolitis*; PI - *Pneumonia interstitialis*; BPP - *Bronchopneumonia purulenta*; BPF - *Bronchopneumonia fibrinosa*; BIP - *Pneumonia bronchointerstitialis*; TRC – *Tracheitis catharalis*; TRCD – *Tracheitis catharalis desquamativa*; TRCM- *Tracheitis catharalis mucinosa*; HIP – *Hyperemia*; TON – *Tonsilitis*; TONE – *Tonsillitis erosiva*; LHIP – *Hyperplasia lymphoidea*; DLF – *Depletio folliculorum lymphaticorum*; LDR – *Lymphadenitis reactiva*; LDH – *Lymphadenitis haemorrhagica*.

У Табели 29. приказане су корелације између хистопатолошких промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима, у односу на укупан број испитаних узорака из свих производних категорија.

Утврђена је статистички високо значајна позитивна корелација између хистопатолошких промена на плућима и душнику ($r=0,53$; $p<0,001$). Идентична вредност корелационог коефицијента забележена је и између промена на плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима ($r=0,53$; $p<0,001$), што представља умерену до јачу позитивну повезаност. Слаба, али статистички значајна позитивна корелација утврђена је између промена на плућима и тонзилама ($r=0,20$; $p<0,05$).

Између хистопатолошких промена на душнику и тонзилама утврђена је слаба, али статистички значајна позитивна корелација ($r=0,21$; $p<0,05$), као и између душника и трахеобронхалних лимфних чворова ($r=0,21$; $p<0,01$). Такође, између промена на тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима утврђена је статистички значајна позитивна корелација ($r=0,25$; $p<0,01$), слабе до умерене јачине.

Табела 29. Корелације хистопатолошких промена

	Плућа (n=182)	Душник (n=182)	Тонзиле (n=130)	Трахеобронх. л.ч. (n=182)
Плућа (n=182)	-	$r = 0,53^{***}$	$r = 0,20^*$	$r = 0,53^{***}$
Душник (n=182)	-	-	$r = 0,21^*$	$r = 0,21^{**}$
Тонзиле (n=130)	-	-	-	$r = 0,25^{**}$
Трахеобронх. л.ч. (n=182)	-	-	-	-

Легенда: r – коефицијент корелације; * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

5.3. Молекуларна идентификација одабраних узрочника респираторних инфекција свиња

Молекуларно-генетичким испитивањима одабраних узорака, извршено је утврђивање учесталости детекције генома вируса репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PRRSV1), вируса инфлуенце свиња (SIV), цирковируса свиња тип 2 (PCV2) и *M. hyorheumoniae* (МНУО) у испитаним узорцима, као и утврђивање постојања њихових међусобних коинфекција и мултиплих инфекција. Такође, извршена је и процена заступљености узрочника у односу на производну категорију и тип установљених лезија.

5.3.1. Учесталост детекције узрочника у различитим производним категоријама

Испитивањем присуства одабраних узрочника унутар и између различитих производних категорија, утврђене су статистички значајне разлике у заступљености PCV2 и PRRSV1 у испитиваним узорцима, на шта указују добијене p вредности ($p=0,0107$ за PCV2 и $p=0,0184$ за PRRS) (Табела 30).

Од укупног броја испитаних узорака ($n=44$) *M. hyorheumoniae* је детектована у 38,6% испитаних узорака (МНУО, 17/44), PCV2 у 47,7% (21/44), вирус PRRSV1 у 15,9% (7/44), док вирус инфлуенце свиња није детектован ни у једном од анализираних узорака (SIV, 0/44).

Најчешће детектовани вирус био је PCV2, са највећом учесталošћу у категорији предтова (PCV2, 10/11; 90,9%), затим код прасади на сиси и у тову (PCV2, 4/11; 36,4%), док је у категорији одгоја утврђен у нешто мањем проценту (PCV2, 3/11; 27,3%).

M. hyorheumoniae је најчешће детектована у категорији предтова (МНУО, 6/11; 54,5%), затим у одгоју и тову (МНУО, 5/11; 45,5%), док је код прасади на сиси утврђена у најмањем броју испитаних узорака (МНУО, 1/11; 9,1%).

Вирус PRRS-а је у највећем проценту детектован у категорији одгоја (PRRSV1, 5/11; 45,5%), затим код прасади на сиси и у предтову (PRRSV1, 1/11; 9,1%), док у категорији това није детектован ни у једном од испитаних узорка (PRRSV1, 0/11).
Геном вируса инфлуенце свиња није детектован ни у једном од испитаних узорка (SIV, 0/44).

Табела 30. Учесталост присуства испитиваних узрочника у различитим производним категоријама

Узрочник	Поз./Нег.	n	Категорија				Р вредност
			прасад на сиси n=11	одгој n=11	предтов n=11	тов n=11	
МНУО	Поз.	17	1	5	6	5	0,1296
	Нег.	27	10	6	5	6	
PCV2	Поз.	21	4	3	10	4	0,0107
	Нег.	23	7	8	1	7	
PRRSV1	Поз.	7	1	5	1	0	0,0184
	Нег.	37	10	6	10	11	
SIV	Поз.	0	0	0	0	0	/
	Нег.	44	11	11	11	11	

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – цирковирус свиња тип 2; PRRSV1 – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња; SIV – вирус инфлуенце свиња.

PCV2 је био најчешће детектовани самостални узрочник у испитиваним узорцима (10/44; 22,7%) (Табела 31). Поред њега, МНУО је самостално била присутна у највећем проценту у категорији това, у 36,4% испитаних узорка (4/11), док је у укупном броју испитаних узорка самостално детектована у 15,9% (7/44). Најчешћа коинфекција забележена је између PCV2 вируса и МНУО, и то у категорији предтова, у 45,5% испитаних узорка (5/11). Истовремено присуство сва три детектована узрочника забележено је у категорији прасади на сиси (1/11; 9,1%) и одгоја (1/11; 9,1%).

Табела 31. Учесталост присуства појединачних узрочника и комбинација узрочника у различитим производним категоријама

Узрочник	Категорија				Укупно
	прасад на сиси n=11	одгој n=11	предтов n=11	тов n=11	
МНУО	0	2	1	4	7
PCV2	3	0	4	3	10
PRRSV1	0	2	0	0	2
МНУО+PCV2	0	1	5	1	7
МНУО+PRRSV1	0	1	0	0	1
PCV2+PRRSV1	0	1	1	0	2
МНУО+PCV2+PRRSV1	1	1	0	0	2

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – цирковирус свиња тип 2; PRRSV1 – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња.

5.3.2. Однос узрочника и установљених патоморфолошких промена на органима

Од укупно 44 испитана узорка плућа, код 70,5% (31/44) утврђено је присуство неког од испитиваних узрочника (Табела 32).

Код узорака са интерстицијалном пнеумонијом, PCR анализом је утврђено присуство PCV2 у 25,0% случајева (5/20), док је комбинација PCV2 и МНУО детектована такође у 25,0% случајева (5/20).

Присуство једног или више испитиваних узрочника доказано је у свим узорцима плућа са гнојном бронхопнеумонијом (BPP, 100%; 6/6). Комбинација PCV2 и МНУО утврђена је у 33,3% (2/6), док је комбинација МНУО, PCV2 и PRRSV1 такође утврђена у 33,3% (2/6) испитаних узорака плућа са гнојном бронхопнеумонијом (BPP).

У 44,4% испитаних узорака плућа (4/9) са бронхоинтерстицијалном пнеумонијом (BIP) доказано је присуство неког од испитиваних узрочника (МНУО 22,2%; 2/9, PCV2 11,1%; 1/9, МНУО и PRRSV1 11,1%, 1/9).

Табела 32. Однос узрочника и хистопатолошких промена на плућима

Орган	Хистопатолошк и налаз	Узрочник						
		МНУО	PCV 2	PRRS	МНУО +PCV2	МНУО +PRRS	PCV2+ PRRS	МНУО+PC V2+PRRS
Плућа n=44	BO (n=2)	2	0	0	0	0	0	0
	HOEP (n=0)	0	0	0	0	0	0	0
	HEM (n=1)	1	0	0	0	0	0	0
	NINT/BL/PBL (n=5)	1	2	0	0	0	0	0
	PI (n=20)	1	5	2	5	0	1	0
	BPP (n=6)	0	1	0	2	0	1	2
	BPF (n=1)	0	1	0	0	0	0	0
	BIP (n=9)	2	1	0	0	1	0	0

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – циркувирус свиња тип 2; PRRS – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња; BO – без промена; HOEP - *Hyperaemia et oedema pulmonum*; HEM - *Haemorrhagiae pulmonum*; NINT/BL/PBL - *Interstitium pulmonum intensum/ Bronchiolitis/Peribronchiolitis*; PI - *Pneumonia interstitialis*; BPP - *Bronchopneumonia purulenta*; BPF - *Bronchopneumonia fibrinosa*; BIP - *Pneumonia bronchointerstitialis*.

У Табели 33. приказан је однос детектованих узрочника и хистопатолошких промена на душнику. Код катаралног десквамативног трахеитиса (TRCD, n=20) присуство неког од узрочника доказано је у 70,0% случајева (14/20). Појединачна детекција генома PCV2 утврђена је у 25,0% (5/20), комбинација PCV2 вируса и МНУО у 15,0% (3/20), док је самостално присуство генома МНУО забележено у 15,0% (3/20) случајева. Такође је и 75,0% (15/20) узорака без хистопатолошких промена на душнику (BO, n=20) било PCR позитивно на неки од узрочника или њихову комбинацију.

Табела 33. Однос узрочника и хистопатолошких промена на душнику

Орган	Хистопатолошк и налаз	Узрочник						
		МНУ О	PCV 2	PRRS	МНУО +PCV2	МНУО +PRRS	PCV2+P RRS	МНУО+PC V2+PRRS
Душник n=44	BO (n=20)	4	5	0	3	0	2	1
	TRC (n=3)	0	0	1	0	0	0	0
	TRCD (n=20)	3	5	1	3	1	0	1
	TRCM (n=1)	0	0	0	1	0	0	0

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – циркувирус свиња тип 2; PRRS – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња; BO – без промена; TRC – *Tracheitis catharalis*; TRCD – *Tracheitis catharalis desquamativa*; TRCM- *Tracheitis catharalis mucinosa*.

У Табели 34. приказан је однос детектованих узрочника и хистопатолошких промена на тонзилама. Код тонзилитиса (TON, n=11) присуство узрочника доказано је у 45,5% случајева

(5/11). Појединачна детекција генома PCV2 утврђена је у 27,3% (3/11), док су комбинација PCV2 и PRRSV1, као и изолована детекција МНУО, забележене у по 9,1% случајева (1/11).

Табела 34. Однос узрочника и хистопатолошких промена на тонзилама

Орган	Хистопатолошк и налаз	Узрочник						
		МНУ О	PCV 2	PRRS	МНУО +PCV2	МНУО +PRRS	PCV2+P RRS	МНУО+PC V2+PRRS
Тонзиле n=33	BO (n=13)	1	2	1	3	1	1	0
	HIP (n=5)	1	0	0	2	0	0	2
	TON (n=11)	1	3	0	0	0	1	0
	TONE (n=3)	0	1	1	1	0	0	0
	LHIP (n=1)	0	1	0	0	0	0	0
	DLF (n=0)	0	0	0	0	0	0	0

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – циркуирус свиња тип 2; PRRS – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња; BO – без промена; HIP – *Hyperemia*; TON – *Tonsilitis*; TONE – *Tonsillitis erosiva*; LHIP – *Hyperplasia lymphoidea*; DLF – *Depletio folliculorum lymphaticorum*.

У Табели 35. приказан је однос детектованих узрочника и хистопатолошких промена на трахеобронхалним лимфним чворовима. У трахеобронхалним лимфним чворовима, код реактивног лимфаденитиса (LDR, n=24) присуство узрочника доказано је у 75,0% случајева (18/24).

Појединачна детекција генома PCV2 утврђена је у 25,0% (6/24), комбинација PCV2 и МНУО у 12,5% (3/24), што је исти случај као и код изоловане детекције генома МНУО (12,5%; 3/24). Појединачна детекција PRRSV1, комбинација PCV2 и PRRSV1, као и мултипла комбинација МНУО, PCV2 и PRRSV1, утврђене су у по 8,3% случајева реактивног лимфаденитиса (2/24).

Табела 35. Однос узрочника и хистопатолошких промена на трахеобронхалним лимфним чворовима

Орган	Хистопатолош ки налаз	Узрочник						
		МНУ О	PCV 2	PRRS	МНУО +PCV2	МНУО +PRRS	PCV2+P RRS	МНУО+PC V2+PRRS
Трахеобр онх. лимфни чвор n=44	BO (n=6)	1	2	0	1	0	0	0
	HIP (n=6)	1	0	0	3	0	0	0
	LHIP (n=4)	2	1	0	0	0	0	0
	DLF (n=3)	0	1	0	0	1	0	0
	LDR (n=24)	3	6	2	3	0	2	2
	LDH (n=1)	0	0	0	0	0	0	0

Легенда: МНУО – *Mycoplasma hyopneumoniae*; PCV2 – циркуирус свиња тип 2; PRRS – вирус репродуктивног и респираторног синдрома свиња; BO – без промена; HIP – *Hyperemia*; LHIP – *Hyperplasia lymphoidea*; DLF – *Depletio folliculorum lymphaticorum*; LDR – *Lymphadenitis reactiva*; LDH – *Lymphadenitis haemorrhagica*.

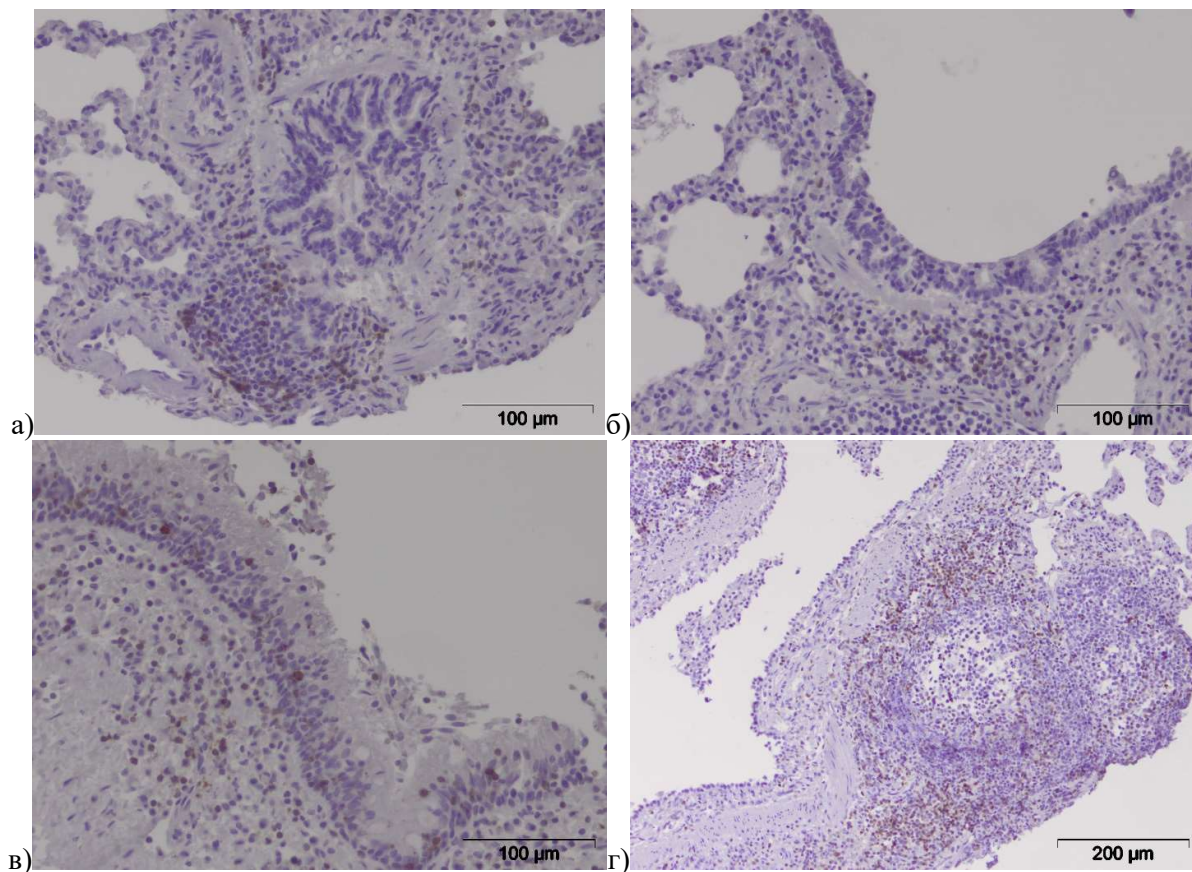
5.4. Имунохистохемијски налаз

Имунохистохемијско испитивање експресије CD3 и CD21 лимфоцита, као и процена интензитета имунохистохемијске реакције, извршени су на одабраним узорцима плућа и душника испитиваних јединки из различитих производних категорија.

5.4.1. Експресија CD3 антигена

У Табели 36. приказан је интензитет имунохистохемијске реакције на CD3 антиген Т лимфоцита у одабраним органима испитиваних јединки.

У испитаним узорцима плућа и душника прасади установљен је претежно слаб до умерен интензитет имунохистохемијске реакције на CD3 ћелијски антиген (Слика 14).



Слика 14. Експресија CD3 лимфоцита: а) плућа, х 40, умерена реакција; б) душник, х 40, слаба реакција; в) душник, х 40, умерена реакција; г) душник, х 20, јака реакција.

Слабо позитиван интензитет имунохистохемијске реакције утврђен је у 43,8% (7/16), умерено позитиван у 37,5% (6/16), док је јако позитивна реакција утврђена у 18,8% испитаних узорака плућа (3/16).

Када су узорци душника у питању, слабо позитиван интензитет имунохистохемијске реакције утврђен је у 37,5% (6/16), умерено позитиван у 50,0% (8/16), док је јако позитивна реакција утврђена у 12,5% испитаних узорака душника (2/16).

Табела 36. Интензитет имунохистохемијске реакције на CD3 антиген Т лимфоцита

Орган	Имунохистохемијска реакција			
	-	+	++	+++
Плућа (n=16)	0	7	6	3
Душник (n=16)	0	6	8	2

Легенда: Опис интензитета реакције: негативна реакција (-); слабо позитивна(+); умерено позитивна (++); јака реакција (+++).

5.4.2. Експресија CD21 антигена

У Табели 37. приказан је интензитет имунохистохемијске реакције на CD21 антиген В лимфоцита у одабраним органима испитиваних јединки.

У испитаним узорцима плућа прасади установљен је претежно умерен до јак интензитет имунохистохемијске реакције на CD21 ћелијски антиген. Од укупног броја испитаних узорака плућа, слабо позитивна реакција је утврђена у 12,5% (2/16), умерено позитивна реакција у 37,5% (6/16) и јако позитивна реакција у 50,0% (8/16) испитаних узорака.

Са друге стране, у испитаним узорцима душника прасади установљен је претежно слаб до умерен број ћелија позитивних на CD21 ћелијски антиген. Од укупног број испитаних узорака душника, слабо позитивна реакција је утврђена у 37,5% (6/16), умерено позитивна реакција у 56,3% (9/16), док је јако позитивна реакција утврђена у само 6,3% (1/16) испитаних узорака.

Табела 37. Интензитет имунохистохемијске реакције на CD21 антиген В лимфоцита

Орган	Имунохистохемијска реакција			
	-	+	++	+++
Плућа (n=16)	0	2	6	8
Душник (n=16)	0	6	9	1

Легенда: Опис интензитета реакције: негативна реакција (-); слабо позитивна(+); умерено позитивна (++); јака реакција (+++).

6. ДИСКУСИЈА

Резултати овог истраживања показују да комплекс респираторних болести свиња у испитиваном запату није представљао једноставан, органски ограничен процес, већ динамичан мултиетиолошки синдром у оквиру којег су морфолошке промене, производна категорија, локални имунски одговор и присуство појединачних патогена међусобно комплексно реаговали. Основна вредност добијених резултата огледа се у томе што су макроскопски, хистопатолошки, имунохистохемијски и молекуларно-генетички налази анализирани кроз више производних фаза, од прасади на сиси до клинички здравих јединки на линији клања. На тај начин добијен је увид у учесталост и различите манифестације патоморфолошких промена унутар и између испитиваних производних категорија.

Овакво тумачење је у складу са савременим концептом PRDC-а, према коме се респираторне болести свиња не могу објаснити деловањем једног узрочника, већ интеракцијом вирусних и бактеријских агенаса, имунског статуса животиња и услова интензивне производње (Opriessnig и сар., 2011; Sarli и сар., 2021). Резултати овог истраживања указују на значајне разлике у учесталости лезија између производних категорија, статистички значајне корелације између плућа и придружених органа, присуство појединачних узрочника и два или више узрочника, као и различит интензитет CD3 и CD21 ћелијске реакције у плућима и душнику.

Укупна учесталост макроскопских промена на плућима износила је 67,0% (122/182), док су хистопатолошке промене установљене код 62,6% испитаних узорака плућа (114/182). Ови подаци показују да су лезије на плућима биле веома чест налаз у испитиваном материјалу, али и да макроскопски и микроскопски налаз нису у потпуности били идентични. Висока подударност патоанатомских и хистопатолошких налаза на плућима (95,6%) потврђује да макроскопски преглед има значајну дијагностичку вредност, посебно код изражених пнеумонија и консолидација. Ипак, неподударни случајеви указују да визуелна процена није довољна за потпуно разумевање природе лезија. Значај комбиновања макроскопског и хистопатолошког прегледа потврђују и резултати Pallares и сар. (2021), који су макроскопски утврдили лезије компатибилне са микоплазматском пнеумонијом код 30,97% испитаних плућа, док су хистопатолошке промене карактеристичне за инфекцију *M. hyopneumoniae* потврђене код 24,21% узорака. У овом случају је 78,17% плућа са макроскопским лезијама имало одговарајућу микроскопску потврду. Ови резултати, као и висока подударност налаза утврђена у нашем истраживању, указују да макроскопски преглед представља поуздану почетну дијагностичку методу, али да се без хистопатолошке анализе не може увек поуздано проценити карактер, стадијум и могући етиолошки значај установљених промена.

Ово је посебно важно код интерстицијалних и бронхиоларних промена, које су у овом истраживању чиниле значајан део микроскопских налаза. Задебљање интерстицијума са бронхиолитисом и перибронхиолитисом, интерстицијална пнеумонија и бронхоинтерстицијална пнеумонија имају различито патогенетско значење, али макроскопски могу бити слабо разграничене, нарочито у раним или регресивним фазама болести. Управо зато је хистопатолошки преглед омогућио прецизније раздвајање интерстицијалних, супуративних, фибринозних и мешовитих лезија, што је од суштинског значаја за тумачење могуће етиологије. Овакву дијагностичку вредност хистопатолошког прегледа наглашавају Gupta и сар. (2009), који наводе да се интерстицијалне, бронхиоларне и бронхоинтерстицијалне лезије код свиња често преклапају макроскопски, док се њихово поуздано разликовање може извршити тек микроскопским прегледом. Caswell и Williams (2015) истичу да је хистопатолошка анализа од посебног значаја код хроничних микоплазматских и мешаних инфекција, јер омогућава идентификацију карактеристичних промена као што су перибронхиоларна лимфоидна хиперплазија, бронхиолитис и различити облици интерстицијалног запаљења плућа.

Макроскопски налаз који одговара интерстицијалној пнеумонији био је најучесталија промена на плућима укупно (34/182; 18,7%), док је хистопатолошки највећи значај имала комбинација интерстицијалних, бронхиоларних и бронхоинтерстицијалних промена. Ова разлика показује

да макроскопска класификација, иако корисна, може поједноставити сложену морфолошку слику. У PRDC-у исти патоген може бити повезан са различитим типовима лезија, а различити патогени могу довести до сличног морфолошког обрасца (Ruggeri и сар., 2020). Због тога је интеграција макроскопског, хистопатолошког и молекуларног налаза у овом истраживању била неопходна за правилно тумачење резултата.

Неподударност између макроскопског и хистопатолошког налаза посебно је била изражена код налаза хиперемije и едема плућа, што се може објаснити чињеницом да су ове промене динамичне, зависе од начина угинућа, циркулационог статуса, трајања болести и постморталних промена. Због тога се налази хиперемije и едема морају тумачити опрезно и увек у контексту других лезија. Интерстицијални едем и васкуларне промене код вирусних пнеумонија могу варирати у зависности од стадијума болести и брзине обраде материјала (Zimmerman и сар., 2006; Wagner и сар., 2010), што је вероватно допринело делу разлика између макроскопског и микроскопског налаза у овом истраживању.

Резултати корелационе анализе показали су да хистопатолошке промене на плућима нису биле изолован налаз. Утврђена је статистички високо значајна позитивна корелација између промена на плућима и душнику ($r=0,53$; $p<0,001$), као и између плућа и трахеобронхалних лимфних чворова ($r=0,53$; $p<0,001$). Корелација између плућа и тонзила била је слабија, али статистички значајна ($r=0,20$; $p<0,05$). Ови подаци указују да су плућне лезије биле део ширег респираторног и локалног имунолошког процеса, а не само локализоване промене у плућном паренхиму. У доступној савременој литератури из области PRDC-а преовлађују истраживања усмерена на појединачне органе, појединачне патогене или изоловане морфолошке лезије, док су свеобухватне корелационе анализе респираторних и припадајућих лимфоидних органа, каква је приказана у нашем истраживању, знатно ређе заступљене.

Значајна повезаност појаве промена на плућима и душнику може се објаснити заједничком изложеношћу епитела горњих и доњих дисајних путева аерогеним патогенима и иритансима. Катарални десквамативни трахеитис, који је био најзаступљенији у одгоју и предтову, указује на оштећење респираторног епитела, десквамацију и локалну инфламаторну реакцију. Ово има патогенетски значај јер оштећење мукоцилијарног клиренса олакшава колонизацију доњих дисајних путева. *M. hyopneumoniae* је у том погледу посебно важна, јер оштећује цилијарни епител и нарушава локалне одбрамбене механизме, чиме ствара услове за секундарне инфекције (Maes и сар., 2018; Pieters и Maes, 2019). Такође, истовремено оштећење епитела душника и плућа потврђује да деструкција мукоцилијарног апарата директно доприноси тежини плућних лезија, онемогућавајући ефикасно чишћење и елиминацију инфективних агенаса (Zimmerman и сар., 2019).

Једнако значајна корелација патолошких промена на плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима потврђује улогу регионалног лимфоидног ткива у патогенези PRDC-а. Трахеобронхални лимфни чворови дренирају лимфу из плућа и дисајних путева, због чега реактивни лимфаденитис и лимфоидна хиперплазија представљају индиректан показатељ антигенске стимулације у респираторном систему. У овом истраживању хистопатолошке промене на трахеобронхалним лимфним чворовима утврђене су код 114/182 узорка (62,6%), а доминирао је реактивни лимфаденитис. Такав налаз подржава став да хроничне и мешовите респираторне инфекције код свиња изазивају не само плућне, већ и промене на регионалним лимфним чворовима (Lopez и Martinson, 2016). Повезаност промена на плућима и трахеобронхалним лимфним чворовима утврђена у нашем истраживању подржана је налазима Hansen и сар. (2010), који су у свом истраживању показали да се различити облици пнеумонија често јављају упоредо са реактивним и инфламаторним променама у регионалним лимфоидним ткивима. Вирусни патогени попут PRRSV и PCV2 имају изражен тропизам према макрофагима и лимфоидном ткиву, узрокујући лимфаденопатију, хиперплазију или лимфоидну деплецију у регионалним лимфним чворовима који дренирају плућа (Segales и сар., 2004; Opriessnig и сар., 2007). Промене у трахеобронхалним лимфним чворовима, стога, не треба посматрати као секундарну последицу, већ као синхрони патолошки процес који

одражава системску патогенезу имуносупресивних вируса унутар респираторног система свиња (Maxie, 2016).

Слабија, али значајна корелација патолошких промена на плућима и тонзилама може се објаснити специфичном улогом тонзила као примарних улазних врата инфекције (лимфоепителијална баријера) и резервоара патогена, имајући у виду да лезије на тонзилама нису увек директно пропорционалне тежини промена на плућном ткиву. Тонзиле могу бити место иницијалне колонизације, локалне имунске реакције или перзистенције патогена, али морфолошке промене у њима често остају благе или неспецифичне. Овај налаз је посебно важан за PRRSV и PCV2, који могу перзистирати у лимфоидном ткиву и допринети одржавању инфекције у запату (Trang и сар., 2014; Fiers и сар., 2024).

Један од најважнијих резултата овог истраживања јесте јасна разлика у морфолошком обрасцу лезија између производних категорија. Код прасади на сиси, у одгоју и предтову учесталост плућних промена била је висока, док су код клинички здравих јединки на линији клања лезије биле знатно ређе и блажег карактера. Овај налаз указује да PRDC у испитиваном запату није имао статичан ток, већ се морфолошки и етиолошки мењао током производног циклуса.

Код прасади на сиси хистопатолошке промене на плућима утврђене су код 34/50 јединки (68,0%), што показује да су респираторне лезије биле присутне већ у првој испитиваној категорији. Доминантни налази били су задебљање интерстицијума са бронхиолитисом и перибронхиолитисом (12/50; 24,0%) и интерстицијална пнеумонија (10/50; 20,0%), док су супуративне, фибринозне и бронхоинтерстицијалне форме биле мање заступљене. Овакав образац упућује на рану фазу респираторног процеса, у којој доминирају интерстицијалне и бронхиоларне промене, пре развоја изражених секундарних бактеријских компликација. Сличне налазе описују Opriessnig и сар. (2011) и Sarli и сар. (2021), који наводе да се у раним фазама PRDC-а код млађих категорија свиња чешће уочавају интерстицијалне и бронхиоларне лезије повезане са вирусним и микоплазматским инфекцијама, док се супуративне и фибринозне бронхопнеумоније чешће развијају касније, након секундарне бактеријске колонизације. Caswell и Williams (2015) такође истичу да су бронхиолитис, перибронхиоларна инфламација и интерстицијално задебљање међу најранијим морфолошким променама код инфекција изазваних *M. hyopneumoniae* и респираторним вирусима свиња. Слично томе, Prodanov-Radulović и сар. (2020) су у прегледу респираторне патологије свиња у Србији истакли да код млађих производних категорија интерстицијалне и бронхоинтерстицијалне лезије представљају доминантан морфолошки образац.

Висока заступљеност интерстицијалне пнеумоније (20,0%), као и задебљања интерстицијума праћеног бронхиолитисом и перибронхиолитисом (24,0%), представља налаз често карактеристичан за примарне вирусне инфекције. Према водећој референтној литератури (Zimmerman и сар., 2019; Maxie, 2016), лимфохистиоцитни инфилтрати у алвеоларним септама и око бронхиола примарни су одговор плућног ткива свиња на вирусе као што су PRRSV или PCV2. Saade и сар. (2020) наглашавају да примарне вирусне и микоплазматске инфекције доводе до оштећења респираторног епитела, нарушавања локалних одбрамбених механизма и стварања услова за каснију колонизацију секундарним бактеријским патогенима.

Молекуларни налази у овој категорији додатно подржавају такво тумачење. Геном PCV2 детектован је код 4/11 узорака (36,4%), док су *M. hyopneumoniae* и PRRSV1 доказани код по 1/11 јединки (9,1%). Најчешће детектован самостални патоген био је PCV2, док је код једне јединке утврђено истовремено присуство *M. hyopneumoniae*, PCV2 и PRRSV1. Најчешћа детекција генома PCV2 у овој старосној категорији указује да цирковирна инфекција може бити присутна рано, и пре потпуно развијене клиничке слике системске цирковирне инфекције. Међутим, како лимфоидна деплеција код прасади на сиси није била доминантан налаз, PCV2 у овој категорији вероватно треба тумачити као фактор ране лимфоидне и плућне антигенске стимулације, а не нужно као узрок потпуно развијеног PCVAD/PCV-SD облика. У нашем истраживању, геном PCV2 је доказан код 36,4% прасади на сиси, што је ниже у односу на резултате Eddicks и сар. (2022), који су утврдили присуство PCV2 код 61,6% испитаних прасади и у 69,4% легала, указујући на интензивну циркулацију вируса већ током периода

сисања. Истовремено, Dieste-Perez и сар. (2018) су, полазећи од података из претходних истраживања у којима се преваленца PCV2 инфекције код новорођене прасади кретала од 40% до 82%, у сопственом истраживању на четири ензоотски инфициране холандске фарме утврдили потпуно одсуство PCV2 виремије код испитане прасади (0/352). Ови резултати показују да рана циркулација PCV2 може значајно варирати између различитих запата и производних система, у зависности од нивоа циркулације вируса, имунског статуса крмача и присуства матерналних антитела. Релативно ниска учесталост *M. hyopneumoniae* у нашем истраживању (9,1%) приближна је резултатима Moorkamp и сар. (2009), који су код прасади на сиси старости од 3 до 6 недеља доказали присуство овог патогена код 12,3% испитаних животиња, док су Deffner и сар. (2022) код прасади у трећој недељи живота утврдили PCR позитиван налаз од свега 0,4% (3/790), али су навели да се у европским запатима преваленца код прасади на сиси најчешће креће од 3,6% до 14,1%. Добијени резултати указују да је инфекција са *M. hyopneumoniae* већ била присутна у испитиваном запату, али још увек није представљала доминантан етиолошки фактор плућних лезија у овој производној категорији. Ниска детекција *M. hyopneumoniae* код прасади на сиси у складу је са епизоотиологијом овог узрочника. Прва изложеност обично настаје током лактације, у контакту са крмачама, али је пренос у том периоду релативно спор и зависи од степена колонизације крмача, дужине лактације и менаџмента у прасилишту (Calsamiglia и сар., 2000; Nathues и сар., 2013a; Pieters и сар., 2014). Ипак, налаз *M. hyopneumoniae* код једне јединке, посебно у склопу троструке коинфекције, има епизоотиолошки значај јер показује да се почетна колонизација може јавити пре залучења. Такве животиње касније могу постати извор инфекције за групе јединки у одгоју и тову (Fano и сар., 2007; Sibila и сар., 2007).

Висока преваленца хистопатолошких промена на плућима код прасади на сиси (68,0%) утврђена у овом истраживању јасно указује на рану експозицију респираторним патогенима унутар прасилишта. Иако се клинички симптоми респираторног комплекса свиња најчешће манифестују у категорији залучене прасади и товљеника, овакав резултат потврђује тезу да инфективни притисак и оштећење плућног паренхима почињу знатно раније. У литератури се висок проценат супклиничких лезија код најмлађих категорија често повезује са раним пасивним преносом патогена са крмача на прасад или брзим хоризонталним ширењем унутар легла (Sibila и сар., 2007).

Код прасади на сиси геном PRRSV1 је детектован ретко, али његов значај не треба свести само на проценат позитивних узорака. У поређењу са нашим резултатима, Lebret и сар. (2019) су у ензоотски инфицираном запату утврдили присуство PRRSV у 26 од 51 испитаног легла (51,0%), док су Li и сар. (2024) приказали позитивност од приближно 36% код прасади старости од 3 до 5 дана и око 58% код прасади непосредно пре залучења. Знатно нижа учесталост детекције у нашем истраживању указује да PRRSV није представљао доминантан респираторни патоген у најмлађој производној категорији испитиваног запата. Ипак, због израженог тропизма према алвеоларним макрофагима и способности да наруши локалну плућну одбрану, PRRSV може деловати као имуномодулатор чак и када је присутан у малом броју узорака (Lunney и сар., 2010; Butler и сар., 2014). Због тога присуство PRRSV у најмлађој категорији може имати већи патогенетски значај него што би се закључило само на основу учесталости детекције.

Мала заступљеност гнојних, фибринозних и бронхоинтерстицијалних форми пнеумонија код прасади на сиси у нашем истраживању додатно поткрепљује чињеницу да се испитивани патолошки процес налазио у својој почетној, експлицитно акутној фази. У овом стадијуму, локални имунски одговор респираторног тракта јесте активиран (на шта указује присуство бронхиолитиса), али још увек није дошло до развијене бактеријске суперинфекције коју карактерише присуство неутрофилних гранулоцита и ексудација фибрина у лумен алвеола. Овакав налаз сугерише да би правовремене дијагностичке методе код прасади на сиси морале бити примарно усмерене на вирусну детекцију, пре него што секундарни патогени попут *P. multocida* или *S. suis*, трансформишу ове ране промене у тешке облике крупозне или гнојне пнеумоније.

Категорија одгоја издваја се као фаза у којој је PRDC достигао најизраженију патоморфолошку комплексност. Хистопатолошке промене на плућима утврђене су код 45/50 јединки (90,0%), што је највећа учесталост међу испитиваним производним категоријама. За разлику од прасади на сиси, код којих су доминирале интерстицијалне и бронхиоларне промене, у одгоју је најчешћа била бронхоинтерстицијална пнеумонија (11/50; 22,0%), уз присуство супуративних, фибринозних, интерстицијалних и васкуларно-едематозних промена. У истраживању Ruggeri и сар. (2020), спроведеном на 930 прасади у фази одгоја, бронхоинтерстицијална пнеумонија је утврђена код 122 животиње, односно у 13,1% случајева, док су катарална бронхопнеумонија, интерстицијална пнеумонија, плеуропнеумонија и гнојна бронхопнеумонија биле заступљене код 19,8%, 8,0%, 13,4% и 5,9% испитаних животиња. У односу на ове податке, већа учесталост бронхоинтерстицијалне пнеумоније у нашем истраживању (22,0%) указује да је код прасади у одгоју у испитиваном запату постојао израженији мешовити образац плућног оштећења, са истовременим захватањем бронхиоларног и интерстицијалног дела. Овакав спектар лезија указује да се у одгоју више не ради само о раној или иницијалној респираторној инфекцији, већ о фази у којој се преклапају вирусне, микоплазматске и секундарне бактеријске компоненте. Бронхоинтерстицијална пнеумонија је посебно значајна јер морфолошки одражава истовремено захватање дисајних путева и интерстицијума. Стога се налаз бронхоинтерстицијалне пнеумоније у нашем истраживању не може тумачити као изолован тип лезије, већ као показатељ преласка са претежно интерстицијалних промена раног узраста на сложеније, мешовите облике пнеумонија карактеристичне за фазу одгоја.

Молекуларни резултати потврђују да је одгој био етиолошки најкомплекснија категорија. *M. hyorhineumoniae* и PRRSV1 су детектовани код по 45,5% испитаних узорака, док је PCV2 утврђен код 27,3%. Поред појединачних детекција узрочника, установљене су двојне коинфекције и трострука коинфекција. Оваква структура указује да се у одгоју јавља фаза интензивне циркулације више патогена, што одговара периоду након залучења, када се смањује пасивна заштита, повећава стрес, долази до мешања јединки и расте ризик од хоризонталног ширења инфекције. Сличан образац описали су Vangroenweghe и Thas (2021), који су код прасади старости од 6 до 11 недеља утврдили присуство PRRSV код 25,5%, PCV2 код 11,4% и коинфекцију PRRSV и *M. hyorhineumoniae* код 6,1% испитаних животиња. У поређењу са тим резултатима, учесталост *M. hyorhineumoniae* и PRRSV1 у нашем истраживању (45,5%) била је значајно виша, што указује на интензивнију циркулацију ових патогена у испитиваном запату током периода одгоја. Слично нашем истраживању, Ruggeri и сар. (2020) су испитивањем 931 залученог прасета утврдили да су различити респираторни патогени били тесно повезани са сложеним и преклапајућим морфолошким обрасцима лезија. У њиховом истраживању PRRSV је био најчешће детектован патоген код залучене прасади, при чему је његова детекција у различитим типовима плућних лезија варирала од 65,8% до 84,7%, док је PCV2 био присутан у 17,6% до 37,3% лезија, а *M. hyorhineumoniae* у 30,9% до 38,9% случајева. Овако висока преваленца патолошких промена у периоду након залучења у потпуности је у складу са широко прихваћеним ставом у литератури да одгој представља најризичнију фазу у свињарској производњи (Opriessnig и сар., 2011; Fano и сар., 2007). Постепено али прогресивно опадање нивоа матерналних антитела, у комбинацији са физиолошким и социјалним стресорима као што су залучење, односно одвајање од крмаче мајке, промена исхране, мешање прасади из различитих легла и регруписавање – ствара идеалан амбијент за наглу хоризонталну трансмисију патогена и развој клиничких и супклиничких форми пнеумоније (Zimmerman и сар., 2019; Segales и сар., 2004). Док су код прасади на сиси доминирале чисте интерстицијалне промене претежно вирусне етиологије, појава бронхоинтерстицијалне пнеумоније у одгоју јасно указује на синергистички ефекат вирусних и бактеријских агенаса. У ветеринарској патологији, бронхоинтерстицијални образац се сматра карактеристичним за мешовите инфекције, где вирусна оштећења алвеоларних септи и бронхиоларног епитела олакшавају колонизацију и патогени ефекат бактерија у организму свиња (Kim и сар., 2003; Mahie, 2016). Додатну потврду оваквог механизма дају експериментални резултати Zhang и сар. (2022), који су показали да коинфекција PRRSV и PCV2 код прасади након залучења

доводи до израженијих интерстицијалних и инфламаторних плућних промена него инфекција било којим од ових патогена појединачно, што потврђује значај синергистичког деловања патогена у патогенези PRDC-а.

Посебно је значајно што су најтежи облици лезија били повезани са истовременим присуством два или више узрочника. Код гнојне бронхопнеумоније сви испитани узорци били су позитивни на најмање један од испитиваних патогена, а комбинације PCV2 и *M. hyopneumoniae* и *M. hyopneumoniae*, PCV2 и PRRSV1 биле су утврђене код по 33,3% узорака са овим типом лезије. То може указивати да тежина плућног оштећења није зависила само од присуства једног агенса, већ од синергистичког деловања више патогена. Saade и сар. (2020) наглашавају да коинфекције мењају локални имунски одговор и микросредину респираторног система, чиме омогућавају лакшу колонизацију и перзистенцију других агенаса. Сличан значај коинфекција у производној фази одгоја описали су Vangroenweghe и Thas (2021), који су код залучене прасади утврдили коинфекцију PRRSV1 и *M. hyopneumoniae* код 14,2% узорака, PRRSV1 и PCV2 код 13,0%, *M. hyopneumoniae* и PCV2 код 10,3%, док је трострука коинфекција PRRSV1, *M. hyopneumoniae* и PCV2 била присутна код 3,3% испитаних узорака. Аутори су показали да се управо у фази одгоја нагло повећава учесталост комбинованих инфекција у односу на период пре залучења, што су довели у везу са губитком матерналног имунитета и интензивнијом хоризонталном трансмисијом патогена.

Улога PRRSV у производној фази одгоја посебно је важна. Његова висока учесталост у овој категорији, заједно са присуством бронхоинтерстицијалних и супуративних лезија, указује на значај вирусне имуномодулације у развоју сложенијих морфолошких образаца. PRRSV нарушава функцију алвеоларних макрофага, смањује фагоцитну активност и утиче на продукцију цитокина, чиме повећава подложност секундарним инфекцијама (Butler и сар., 2014). Када се такво деловање комбинује са оштећењем мукоцилијарног клиренса услед деловања *M. hyopneumoniae*, стварају се услови за развој тежих бронхопнеумонија и мешовитих лезија. Одавно је познато да инфекција вирусима као што су PRRSV и PCV2 доводи до тешке имуносупресије услед деструкције и дисфункције алвеоларних макрофага, чиме се драстично смањује способност плућа да елиминишу друге патогене (Lunney и сар., 2016). У таквим условима, *M. hyopneumoniae*, која нарушава мукоцилијарни апарат бронхијалног система, олакшава продужену и интензивiranу вирусну репликацију, што доводи до повећања лезија и појаве фибринозних и супуративних промена карактеристичних за секундарне бактеријске инфекције (Pieters и Maes, 2019).

Промене на душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима у одгоју додатно потврђују да је ова категорија представљала фазу системски организованог локалног респираторног одговора. Катарални десквамативни трахеитис био је присутан код 38,0% јединки, тонзилитис код 28,0%, а промене на трахеобронхалним лимфним чворовима код 84,0% јединки. Висока учесталост промена на трахеобронхалним лимфним чворовима указује да је у фази одгоја дошло до интензивне антигенске стимулације и активације локалног лимфоидног ткива у оквиру респираторног система. Посебан значај има налаз лимфоидне деплеције у тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима, иако ова промена није била доминантна. Opriessnig и сар. (2004) су код свиња инфицираних PCV2 утврдили лимфоидну деплецију у лимфним чворовима код 83,0% животиња, наглашавајући да је степен деплеције у корелацији са интензитетом цирковирусне инфекције и развојем системских лимфоидних лезија. Слично томе, Kim и сар. (2003) су показали да је код свиња истовремено инфицираних PRRSV и PCV2 лимфоидна деплеција била израженија него код животиња инфицираних појединачним патогенима, уз значајно смањење броја В и Т лимфоцита и истовремено повећање броја макрофага у лимфним чворовима. Насупрот томе, код PRRSV моноинфекције доминирала је хиперплазија герминативних центара са минималном деплецијом лимфоцита. У том контексту, лимфоидна деплеција утврђена у нашем истраживању може се довести у везу са присуством PCV2 и PRRSV у испитиваном материјалу и указује на могуће нарушавање лимфоидне архитектуре и имунолошке хомеостазе током фазе одгоја, чак и у случајевима када деплеција није представљала доминантну морфолошку лезију.

У категорији предтова хистопатолошке промене на плућима утврђене су код 26/30 јединки (86,7%), што показује да је респираторна патологија и даље била веома изражена. За разлику од одгоја, где је доминирала бронхоинтерстицијална пнеумонија, у предтову су најчешћи налази били задебљање интерстицијума са бронхиолитисом и перибронхиолитисом и интерстицијална пнеумонија, са по 26,7%. Ова промена морфолошког обрасца указује на померање од субакутне мешовите форме ка хроничном интерстицијалном процесу са израженом лимфоидном реакцијом. Сличне промене описали су Ruggeri и сар. (2020) у свом истраживању, при чему су у категорији предтова интерстицијална пнеумонија и бронхоинтерстицијална пнеумонија биле присутне у 11,2% и 17,6% случајева, док су катарална бронхопнеумонија и плеуритис били заступљени код 23,7% и 29,0% испитаних јединки. У поређењу са тим резултатима, учесталост интерстицијалне пнеумоније у нашем истраживању (26,7%) била је више него двоструко већа, што указује да је код испитиваних свиња у фази предтова доминирала хронична интерстицијална компонента респираторног процеса. Слично томе, Pallares и сар. (2021) су утврдили да је 78,2% плућа са микроскопским лезијама компатибилним са инфекцијом са *M. hyopneumoniae* показивало хроничне бронхоинтерстицијалне и интерстицијалне промене, док су супуративне и фибринозне бронхопнеумоније углавном биле акутног тока. Оваква промена морфолошког обрасца на плућима у нашем истраживању у потпуности кореспондира са природним током инфекција унутар PRDC-а на комерицијалним фармама, где након почетног таласа у одгоју следи фаза у којој примарни имуносупресивни патогени перзистирају и својим присуством утичу на пролонгирано трајање пролиферативних и инфилтративних промена у плућном паренхиму (Grau-Roma и сар., 2011; Chae, 2016).

Најважнији молекуларни налаз у предтову била је изразита доминација PCV2, који је детектован код 10/11 испитаних узорака (90,9%). Истовремено је *M. hyopneumoniae* утврђена код 6/11 (54,5%), док је PRRSV1 доказан само код 1/11 узорака. Овакав профил снажно указује да је у предтову PCV2 могао имати централну улогу у одржавању интерстицијалних и лимфоидних промена, док је *M. hyopneumoniae* вероватно деловала као важан кофактор у бронхиоларним и бронхопнеумоничним лезијама. Изразита учесталост детекције PCV2 у предтову у нашем истраживању (90,9%; 10/11) налази се у горњем делу вредности описаних код свиња са респираторним обољењима. Тако су Kim и сар. (2003) доказали PCV2 код 85 од 105 свиња са PRDC-ом (81,0%), док су Сао и сар. (2024) код оболелих свиња утврдили PCV2 у 83,3% испитаних узорака органа, односно у 91,7% узорака плућа. Патогенетски посматрано, способност PCV2 да изазове и одржи дуготрајне промене у интерстицијуму, задебљање алвеоларних септи, инфилтрацију макрофагама и лимфоцитима, као и изражен перибронхиоларни лимфоидни одговор, типична је карактеристика цирковирусних обољења свиња у каснијим фазама производње (Segales, 2012). Чињеница да је за разлику од одгоја учесталост PRRSV пала на свега 9,1% (1/11), додатно сугерише да је у овој фази дошло до смањења циркулације једног патогена, при чему је PCV2 највероватније преузео централну улогу у одржавању имунопатолошких лезија у плућима товљеника (Opriessnig и сар., 2007).

У категорији предтова, најчешће је истовремено детектовано присуство *M. hyopneumoniae* и PCV2, и то у 5 од 11 узорака (45,5%). Сличан значај ове комбинације патогена описали су Fablet и сар. (2012), који су у великој теренској студији спроведеној на 125 фарми од прашења до тога утврдили да је PCV2 био присутан код 52,0% свиња са респираторним лезијама, у поређењу са 33,0% свиња без плућних промена, док је *M. hyopneumoniae* детектована код 66,0% животиња са плућним лезијама и 31,0% животиња без лезија. На основу ових резултата аутори су закључили да су управо PCV2 и *M. hyopneumoniae* међу патогенима који су најдоследније повезани са развојем и одржавањем хроничних респираторних лезија код свиња у производним фазама предтова и тога. У том контексту, висока учесталост коинфекције *M. hyopneumoniae* и PCV2 у нашем истраживању додатно подржава претпоставку да су ова два патогена имала кључну улогу у одржавању хроничног интерстицијално-лимфоидног процеса и перзистирајућих респираторних лезија током фазе предтова. Овај налаз је посебно значајан јер PCV2 ретко делује као изоловани узрочник. Његов патогенетски значај најчешће долази до

пуног изражаја у условима коинфекција, имунске дисрегулације и хроничне антигенске стимулације, када може појачати тежину и продужити трајање лезија изазваних другим респираторним патогенима (Ouyang и сар., 2019; D'Annunzio и сар., 2023).

Перзистентна и висока преваленца *M. hyopneumoniae* од 54,5% (6/11) у предтову могла би указивати на њену улогу кључног синергистичког кофактора. Познато је да *M. hyopneumoniae* показује тенденцију ка дуготрајној колонизацији и хроничном току, изазивајући перибронхијалну и перибронхиоларну лимфоидну хиперплазију (Maes и сар., 2018), што је сагласно и налазима нашег испитивања. Снажна коинфекција између PCV2 и *M. hyopneumoniae*, која је овде евидентна, експериментално је доказана као фактор који потенцира репликацију цирковируса и појачава експресију лезија плућног ткива карактеристичних за оба патогена (Opriessnig и сар., 2004). *M. hyopneumoniae* утиче на лимфоидну хиперплазију око дисајних путева, што може створити повољне услове за репликацију PCV2, с обзиром на његов тропизам према активно пролиферишућим ћелијама лимфоидног и моноцитно-макрофагног система (Chae, 2005).

Промене на трахеобронхалним лимфним чворовима у предтову биле су посебно изражене, при чему су хистопатолошким анализом лезије утврђене код 28/30 јединки (93,3%), а реактивни лимфаденитис код 19/30 (63,3%). Овај налаз је један од најважнијих у категорији предтова, јер показује да је регионално лимфоидно ткиво било изложено интензивној антигенској стимулацији. У контексту доминантног PCV2 присуства, оваква реакција може представљати резултат истовремене перзистентне вирусне инфекције, имунске активације и хроничног запаљенског одговора. D'Annunzio и сар. (2023) показали су да су лимфоидни органи, укључујући регионалне лимфне чворове, међу најчешћим местима детекције PCV2 код случајева PRDC-а, док Correa-Fiz и сар. (2020) истичу способност дуготрајне циркулације и генетичке варијабилности PCV2, што може допринети перзистентном карактеру лимфоидних лезија. Ипак, у доступној литератури нису пронађени радови који приказују учесталост хистопатолошких промена на трахеобронхалним лимфним чворовима код свиња у производној фази предтова на начин упоредив са нашим истраживањем, што додатно наглашава значај и оригиналност добијених резултата.

Одсуство SIV у предтову такође је важно за тумачење резултата. С обзиром на то да се вирус инфлуенце свиња најчешће повезује са акутним респираторним епизодама, кратким периодом излучивања и некротизујућим лезијама респираторног епитела, његово одсуство у овој категорији подржава закључак да су доминантне лезије биле хроничног карактера и више повезане са PCV2 и *M. hyopneumoniae* него са активном инфлуенца вирусном инфекцијом (Brockmeier и сар., 2002; Van Reeth и Vincent, 2019).

Анализом налаза у предтову уочава се да иако долази до делимичног смиривања акутних лезија и едематозних и фибринозних промена које су биле продукт раних бактеријских компликација у одгоју, респираторни систем јединки и даље остаје озбиљно угрожен услед хроничне вирусне перзистенције PCV2 подржане дејством ензоотски присутне микоплазме.

Код клинички здравих товљеника на линији клања хистопатолошке промене на плућима утврђене су код 9/52 јединки (17,3%), док је код 43/52 (82,7%) плућни паренхим био без микроскопски видљивих промена. За разлику од претходних категорија, код товљеника нису утврђене супуративне, фибринозне нити бронхоинтерстицијалне пнеумоније. Најчешће су биле благе интерстицијалне и бронхиоларне промене, што указује да у моменту клања нису доминирале активне, ексудативне форме PRDC-а. У поређењу са другим истраживањима, у нашем истраживању учесталост плућних лезија код товљеника била је релативно ниска у односу на распоне који се наводе у литератури за кланице. Przyborowska-Zhalnariovich и сар. (2023) наводе да се респираторне лезије код товљеника крећу у широком распону од 19% до 74%. Слично томе, Grest и сар. (1997) су код товљеника на линији клања утврдили плућне лезије код приближно 40% животиња, док су Maes и сар. (2001) описали респираторне промене код око 44% товљеника. Још раније, Osborne и сар. (1981) су навели учесталост плућних лезија од 37%, а Davies и сар. (1992) од 45%. Савремена истраживања такође потврђују високу учесталост респираторних лезија код свиња на клању. Тако су Paz-Sanchez и сар. (2021)

макроскопске плућне лезије утврдили код 73,1% товљеника, при чему је краниовентрална бронхопнеумонија била присутна код 46,3%, а плеуритис код 17,6% испитаних животиња. Такође, Paz-Sanchez и сар. (2021), су код испитиваних свиња на линији клања утврдили да су бронхоинтерстицијалне пнеумоније биле најзаступљенији микроскопски налаз (67,4%), док су интерстицијалне пнеумоније чиниле 27,9% случајева. Слично томе, Reschia и сар. (2024) су код товљеника на линији клања описали бронхопнеумоничне лезије код приближно 55% и хронични плеуритис код око 48% испитаних животиња. У односу на наведене податке, учесталост хистопатолошких промена утврђена у нашем истраживању (17,3%) налази се испод већине вредности описаних у литератури, што може указивати на повољнији здравствени статус испитиваног запата у завршној фази производње. Ипак, присуство благих интерстицијалних и бронхиоларних промена код дела клинички здравих товљеника потврђује да линија клања представља важну контролну тачку за откривање субклиничких и резидуалних облика респираторних обољења који остају непрепознати током производног циклуса.

Овакав налаз је очекиван јер су испитивани товљеници били клинички здрави и упућени на клање. Ипак, управо у томе лежи значај кланице као места здравственог мониторинга: она омогућава откривање субклиничких, регресивних или резидуалних промена које током производног циклуса нису биле клинички уочљиве. Ови подаци потврђују да се респираторне лезије код товљеника на линији клања откривају у високом проценту чак и у одсуству јасно испољене клиничке болести, при чему њихова учесталост зависи од здравственог статуса запата, програма вакцинације, биосигурносних мера и начина узорковања (Meuns и сар., 2011; Meriardi и сар., 2012; Maes и сар., 2022).

На душнику су хистопатолошке промене код товљеника биле минимално заступљене, јер је само код 1/52 јединке (1,9%) утврђен катарални десквамативни трахеитис, док је код 51/52 (98,1%) налаз био без промена. На трахеобронхалним лимфним чворовима промене су утврђене код 7/52 јединке (13,5%), при чему је најчешћи налаз била лимфоидна хиперплазија (5/52; 9,6%), док су деплација лимфоидних фоликула и реактивни лимфаденитис установљени код по 1,9% испитаних случајева. Ови резултати такође указују да је код товљеника постојала знатно мања захваћеност респираторних и припадајућих лимфоидних органа него у категоријама одгоја и предтова.

Резултати молекуларне дијагностике, међутим, показују да одсуство изражених лезија не подразумева одсуство патогена. У категорији товљеника геном *M. hyopneumoniae* је детектован код 5/11 узорака (45,5%), PCV2 код 4/11 (36,4%), док PRRSV1 и SIV нису доказани. Као појединачни патоген, *M. hyopneumoniae* је утврђена код 4/11 узорка, а PCV2 код 3/11, док је коинфекција *M. hyopneumoniae* и PCV2 забележена само у једном случају. Овај налаз указује да су *M. hyopneumoniae* и PCV2 могли бити присутни и код животиња без клинички манифестне болести. Сличне резултате описали су Fablet и сар. (2012), који су на 125 фарми од прашења до тога показали да су *M. hyopneumoniae* и PCV2 често присутни и код свиња без изражених клиничких знакова респираторне болести, при чему је *M. hyopneumoniae* детектована код 31,0%, а PCV2 код 33,0% животиња без плућних лезија. У поређењу са тим подацима, учесталост *M. hyopneumoniae* (45,5%) и PCV2 (36,4%) у нашем истраживању упућује да оба патогена могу перзистирати у популацији товљеника и у одсуству значајнијих морфолошких оштећења плућа. На значај молекуларне детекције респираторних патогена код товљеника на линији клања указали су Dors и сар. (2025), који су код 440 свиња на линији клања утврдили *M. hyopneumoniae* у 88,2%, PCV2 у 44,3%, PRRSV1 у 21,8%, а коинфекције са два или више патогена код 87,7% животиња. У односу на те податке, учесталост *M. hyopneumoniae* у нашем истраживању била је нижа, док је учесталост PCV2 била приближна вредностима описаним код товљеника са променама на плућима.

Доминантно присуство *M. hyopneumoniae* код товљеника, уз мали број морфолошких промена, може се тумачити као перзистентна или субклиничка микоплазматска инфекција. Такво тумачење подржавају Tonni и сар. (2021), који су код товљеника на линији клања утврдили *M. hyopneumoniae* у 70/71 испитаних плућа, при чему је овај патоген доказиван и у лобусима без

видљивих лезија. Ензоотска пнеумонија има дуготрајан ток и може бити присутна у виду благих или регресивних лезија у моменту клања (Meriardi и сар., 2012; Pallares и сар., 2021). У нашем истраживању управо је такав образац вероватно био присутан: молекуларна детекција *M. hyopneumoniae* без изражених супуративних и фибринозних лезија указује на хроничну или регресивну фазу инфекције, а не на акутну активну бронхопнеумонију. У литератури је добро документовано да *M. hyopneumoniae* може дуготрајно колонизовати епител респираторног тракта без индуковања тешких ексудативних лезија, нарочито када изостану имуносупресивни вирусни патогени или секундарни бактеријски патогени попут *P. multocida* (Maes и сар., 2018; Sibila и сар., 2007). Слично томе, након увођења глобалних програма вакцинације или природне стабилизације запата, PCV2 често прелази у супклиничку форму, коју карактерише присуство вирусне ДНК у ткивима без пратеће лимфоидне деплеције и тешких интерстицијалних пнеумонија (Segales, 2012; Chae, 2016). У неким пак случајевима, задебљање алвеоларних септи, праћено бронхиолитисом и перибронхиолитисом, није увек праћено присуством неког од респираторних узрочника, што упућује на могућност да је у питању одбрамбени одговор плућа на факторе средине карактеристичне за интензивни узгој свиња (честице прашине, амонијак) (Hansen и сар., 2010).

Умерено присуство PCV2 код товљеника без изражених лимфоидних лезија може се тумачити и као показатељ циркулације вируса без јасно развијене системске цирковирусне болести. Како је коинфекција *M. hyopneumoniae* и PCV2 утврђена само у једном случају, а PRRSV1 није детектован, изостала је етиолошка комбинација која је у млађим категоријама била повезана са тежим лезијама. То може објаснити зашто код товљеника нису доминирале бронхоинтерстицијалне, супуративне или фибринозне пнеумоније.

Ниска учесталост лезија код товљеника у односу на млађе категорије могла би бити и резултат избора клинички здравих животиња за клање, регресије ранијих лезија, али и чињенице да су најтежи облици PRDC-а вероватно били присутни раније у производном циклусу. Ипак, чак и благе лезије на линији клања имају производни значај, јер су у литератури повезане са смањењем производних перформанси, променама квалитета трупа и меса и економским губицима (Karabasil и сар., 2017; Ćobanović и сар., 2021; Przyborowska-Zhalniarovich и сар., 2023). Karabasil и сар. (2017) су код товљеника са плућним лезијама утврдили мању живу масу, мању масу топлог и хладног трупа и нижу меснатост, док су најтежи облици лезија били повезани са највећом учесталошћу DFD и PSE меса. Слично томе, Ćobanović и сар. (2021) су показали да су свиње без плућних лезија имале највећи проценат нормалног високо квалитетног свињског меса (*Reddish-pink, Firm, Non-exudative, RFN*), док су код животиња са тешким лезијама најчешће утврђиване промене типичне за DFD месо, уз истовремено смањење живе масе, масе трупа и меснатости. Przyborowska-Zhalniarovich и сар. (2023) су додатно показали негативну корелацију између тежине плућних лезија и меснатости трупа ($r = -0,25$), при чему је сваки проценат захваћене плућне површине био повезан са смањењем меснатости за 0,24%. Овакви налази су сагласни са епидемиолошким током PRDC-а на комерцијалним фармама, где животиње које достигну кланичну тежину углавном представљају групу која је успешно пребродила акутне здравствене кризе из фазе одгоја и предтова, при чему су се плућне лезије у великој мери санирале или прешле у супклиничку форму (Fablet и сар., 2012; Fraile и сар., 2010).

Добијени резултати у нашем истраживању сугеришу да товљеници на линији клања могу представљати потенцијалне трајне резервоаре и изворе инфекције неких од најважнијих патогена који се срећу код свиња, што је у сагласноси са наведеним подацима из литературе. Овакви подаци индиректно указују и на то да се праћење здравственог статуса запата само на основу патоморфолошког скрининга у кланици мора тумачити са опрезом, с обзиром на то да одсуство видљивих макроскопских лезија може прикрити реално стање и перзистенцију патогена који угрожавају младе, односно све категорије свиња у порасту на истој фарми.

Када се резултати молекуларне дијагностике сагледају у целини, кроз све испитане производне фазе, присуство најмање једног од испитиваних узрочника доказано је код 31/44 узорка (70,5%). Најзаступљенији узрочник био је PCV2 (21/44; 47,7%), затим *M. hyopneumoniae*

(17/44; 38,6%), док је PRRSV1 утврђен код 7/44 узорака (15,9%). SIV није детектован ни у једном испитаном узорку. Ови резултати потврђују да је PRDC у испитиваном материјалу био преваходно повезан са PCV2, *M. hyopneumoniae* и PRRSV1, док активна инфекција изазвана инфлуенца вирусом у тренутку узорковања није била доказана.

По производним категоријама, PCV2 је био најчешће детектован у предтову, PRRSV1 у одгоју, док је *M. hyopneumoniae* била релативно равномерно присутна у одгоју, предтову и тову. Ови резултати указују на различиту заступљеност испитиваних патогена међу различитим категоријама. Управо наведена динамика објашњава различите морфолошке обрасце: интерстицијално - бронхиоларне промене код прасади на сиси, мешовите бронхоинтерстицијалне и супуративне форме у одгоју, интерстицијално-лимфоидне промене уз високу заступљеност PCV2 у предтову и благе резидуалне лезије код товљеника на линији клања.

Коинфекције су имале посебан патогенетски значај. Најчешћа двојна коинфекција била је *M. hyopneumoniae* и PCV2 (7/44; 15,9%), док су PCV2 и PRRSV1 и *M. hyopneumoniae* и PRRSV1 биле ређе. Трострука коинфекција *M. hyopneumoniae*, PCV2 и PRRSV1 утврђена је код 2/44 узорака (4,5%), и то по једна код прасади на сиси и у одгоју. Иако број ових случајева није велики, њихов значај је у томе што показују да полимикробна интеракција може настати у раном узрасту и бити повезана са тежим морфолошким лезијама у каснијим производним фазама.

Налази овог истраживања у великој мери су сагласности са резултатима Savić и сар. (2015), који су у Србији показали велику разноврсност комбинација вирусних и бактеријских патогена у PRDC случајевима, са PCV2 као најчешће детектованим вирусом. У оквиру ове студије, Savić и сар. (2015) анализирано је 235 узорака плућног ткива пореклом од природно инфицираних свиња са клиничком и патоморфолошком сликом компатибилном са PRDC-ом. PCR анализом испитивано је присуство PCV2, PRRSV, SIV, *M. hyopneumoniae*, *P. multocida*, *A. pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *S. suis* и *T. pyogenes*. Аутори су утврдили изразиту етиолошку комплексност PRDC-а, при чему је идентификовано чак 49 различитих комбинација вирусних и бактеријских патогена. Најчешће детектован патоген био је PCV2, присутан у 88,1% узорака, затим *M. hyopneumoniae* у 78,7%, PRRSV у 60,0% и *P. multocida* у 58,3% испитаних плућа. Посебно је значајно да је најчешћа коинфекција била комбинација PCV2 и *M. hyopneumoniae*, утврђена код 40,0% случајева, док је комбинација PCV2, PRRSV и *M. hyopneumoniae* била присутна код 25,0% испитиваних узорака. Поред тога, аутори су утврдили 150 (63,8%) монобактеријских и 85 (36,2%) полибактеријских инфекција, што додатно потврђује да се PRDC у теренским условима најчешће испољава као синдром мултипатогенске етиологије. И у оквиру нашег истраживања PCV2 је био најчешће детектован вирус у свим производним категоријама. Посебно је упадљиво да је преваленца PCV2 у категорији предтова практично идентична вредностима које су Savić и сар. (2015) утврдили код свиња са развијеним PRDC-ом (88,1%), што указује да је управо у овој производној фази циркулација PCV2 достигла највећи интензитет. Истовремено, резултати оба истраживања потврђују да се патогенетски значај PCV2 не огледа само у високој преваленци, већ и у његовој способности да учествује у бројним коинфекцијама и на тај начин доприноси развоју комплексних респираторних лезија. Међутим, за разлику од наведене студије, у нашем истраживању фокус је био на повезивању одабраних патогена са прецизно дефинисаним хистопатолошким лезијама и производним категоријама. То нам је омогућило конкретније тумачење улоге појединачних агенаса у еволуцији лезија у испитиваном запату свиња.

Одсуство SIV у свим испитаним узорцима не треба тумачити као доказ да вирус инфлуенце свиња нема епизоотиолошки значај у региону или у ширем контексту PRDC-а. Напротив, SIV је у литератури препознат као један од важних примарних узрочника респираторних инфекција свиња (Opriessnig и сар., 2011; Van Reeth и Vincent, 2019). Међутим, биологија инфекције SIV значајно се разликује од хроничних инфекција као што су PCV2 и *M. hyopneumoniae*. Инфлуенца свиња најчешће има акутан, краткотрајан ток и релативно кратак период излучивања вируса, због чега је PCR детекција снажно зависна од момента узорковања.

У овом истраживању узорци су анализирани из ткива плућа, душника, тонзила и трахеобронхалних лимфних чворова, што може смањити вероватноћу детекције генома SIV уколико је акутна фаза инфекције прошла. Носни брисеви, оро-фарингеали брисеви и бронхоалвеоларни садржај често су погоднији материјал за доказивање активне инфлуенца инфекције у раној фази (Van Reeth и Vincent, 2019). Због тога негативан RT-PCR налаз највероватније указује да у моменту узорковања није постојала активна инфекција са довољном количином вирусног генома у анализираном ткиву, али не искључује могућност претходне или сезонске циркулације SIV у популацији.

Имунохистохемијски налази CD3⁺ и CD21⁺ ћелија допуњују хистопатолошку и молекуларну интерпретацију PRDC-а у овом истраживању. CD3⁺ и CD21⁺ ћелије биле су присутне у свим испитаним узорцима плућа и душника, што указује да су респираторне лезије биле праћене активацијом Т и В ћелијске компоненте локалног имунског одговора. CD3⁺ Т лимфоцити у плућима и душнику најчешће су показивали слабу до умерену реакцију, док је CD21⁺ реакција у плућима била израженија него у душнику.

Аерогени улазак респираторних патогена индукује брзу регрутацију Т и В ћелија, које заједнички координишу одбрану домаћина, али и учествују у имунопатолошким реакцијама које карактеришу хронични ток болести (Thacker и Minion, 2012).

У плућима је јако позитивна CD21 реакција утврђена у 50,0% узорака, а умерена у 37,5%, што указује на наглашену В-ћелијску, односно фоликуларну лимфоидну компоненту. Овај налаз је у складу са присуством перибронхиоларних лимфоидних агрегата и BALТ-а, који се развијају у условима хроничне антигенске стимулације. Mougon-Quiroz и сар. (2004) наводе да се BALТ код хроничне стимулације може организовати у структуре сличне лимфоидним фоликулима, са Т и В ћелијском компартментализацијом.

Израженија CD21 реакција у плућима, у односу на душник, има важно патогенетско значење. Она указује да је плућно ткиво било место интензивније локалне лимфоидне организације, што одговара хроничном или поновљеном антигенском надражају. Ово се добро уклапа са доминацијом интерстицијалних, бронхиоларних и бронхоинтерстицијалних лезија, као и са присуством *M. hyopneumoniae*, PCV2 и PRRSV1 у испитиваном материјалу. Redondo и сар. (2009) су у експерименталној инфекцији *M. hyopneumoniae* показали да се перибронхијална и перибронхиоларна лимфоидна хиперплазија, задебљање алвеоларних септи и инфламаторни ексудат најизраженије јављају од 7. до 28. дана након инфекције, уз повећану имунохистохемијску експресију лимфоидних маркера и цитокина. Тај налаз подржава тумачење да је јака CD21 реакција у нашем истраживању последица дуготрајне стимулације локалног лимфоидног ткива, нарочито у условима присуства *M. hyopneumoniae*.

Слаба до умерена реакција CD3⁺ Т лимфоцита у плућима и душнику указује на континуиран, али контролисан целуларни одговор. Улога CD3⁺ Т ћелија (које обухватају и помоћне Т-хелпере и цитотоксичне Т-лимфоците) од кључног је значаја за елиминацију интрацелуларних патогена, попут вируса PRRS и цирковируса (PCV2) детектованих у овом раду. Karabasil и сар. (2017) су имунохистохемијском анализом показали да је код 26,67% испитиваних плућа постојала изражена перибронхиоларна и периаљеоларна инфилтрација претежно CD3⁺ Т лимфоцитима, што су аутори довели у везу са вирусном компонентом пнеумоније. Истовремено су хронична и акутна интерстицијална пнеумонија представљале најчешће хистопатолошке налазе, што указује да инфилтрација CD3⁺ Т ћелија представља важну компоненту локалног ћелијски посредованог имунског одговора у плућима свиња са хроничним респираторним лезијама.

Међутим, пролонгирана вирусна перзистенција и имуносупресивни карактер ових патогена у каснијим фазама (одгој и предтов) могу довести до деплеције или исцрпљивања Т ћелијског одговора, што се хистолошки често манифестује управо њиховим умереним присуством (Chae, 2016; Sinkora и сар., 2014).

Иако имунохистохемијски налази нису анализирани по производним категоријама, већ збирно на одабраним узорцима плућа и душника, они подржавају закључак да су лезије у овом истраживању имале карактер хроничне антигенске стимулације и организованог локалног

имунског одговора. Истовремено, могући утицај PCV2 и PRRSV на лимфоидну архитектуру и функцију локалног имунитета треба узети у обзир при тумачењу CD3/CD21 налаза, јер оба вируса могу активирати имунски одговор и повећати подложност секундарним инфекцијама (Segales, 2012; Butler и сар., 2014).

На основу анализе резултата имунохистохемијског испитивања потврђује се да карактер инфламаторног одговора код инфицираних свиња одговара израженој пролиферацији В ћелијске линије, што сугерише да организам покушава да компензује имunosупресивне ефекте вируса кроз локалну хиперпродукцију антитела, подстакнут снажним ензоотским утицајем микоплазме.

Резултати овог истраживања имају научни значај јер повезују морфолошке лезије са молекуларном детекцијом најважнијих узročника PRDC-а у више производних категорија. Посебна вредност рада огледа се у утврђивању различите заступљености испитиваних патогена и различитих морфолошких образаца лезија у појединим производним категоријама: PCV2 је био најзначајнији у предтову и у интерстицијално-лимфоидним лезијама, *M. hyopneumoniae* је била важна у бронхиоларним и хроничним променама, док је PRRSV1 имао највећи значај у одгоју и у коинфекцијама.

Практични значај резултата огледа се у томе што указују да контрола PRDC-а не може бити усмерена само на једног узročника или једну производну фазу. Рана циркулација PCV2 и могућа колонизација *M. hyopneumoniae* код прасади на сиси, изражена комплексност лезија у одгоју, доминација PCV2 у предтову и субклиничко присуство патогена код товљеника показују да је неопходан интегрисан приступ. Такав приступ треба да обухвати континуирану контролу здравственог статуса крмача, управљање периодом залучења, праћење лезија у одгоју и предтову, молекуларну дијагностику, процену ефикасности вакцинације и систематски мониторинг на линији клања.

Ограничење овог истраживања представља чињеница да је молекуларно-генетичким методама анализиран мањи број одабраних узорака ($n=44$) од укупног броја узорака ($n=182$), због чега резултате треба тумачити као репрезентативан, али не и потпун етиолошки пресек целокупне популације. Производне категорије нису праћене лонгитудинално, па се установљене разлике не могу тумачити као узастопне фазе истог патолошког процеса. Такође, ИHC анализа CD3 и CD21 маркера није спроведена по свим производним категоријама, већ на одабраним узорцима, што ограничава могућност директног поређења интензитета Т и В ћелијске реакције између категорија. Ипак, и поред ових ограничења, добијени резултати дају важан увид у патогенезу PRDC-а у испитиваном запату и могу представљати основу за даља истраживања која би укључила већи број узорака, квантитативну анализу ИHC реакције и шири панел бактеријских патогена.

Свеобухватно посматрајући, резултати овог истраживања показују да се PRDC у испитиваном запату свиња различито испољавао у различитим производним категоријама. Ране интерстицијално-бронхиоларне промене код прасади на сиси, највећа патоморфолошка и етиолошка комплексност у одгоју, доминација PCV2 и лимфоидне реакције у предтову и субклиничке или резидуалне лезије код товљеника на линији клања представљају повезане фазе истог комплексног процеса. Због тога је за разумевање и контролу PRDC-а неопходно истовремено сагледати морфологију лезија, производну категорију, молекуларни налаз и локални имунски одговор.

7. ЗАКЉУЧЦИ

Резултати овог истраживања показали су да комплекс респираторних болести свиња (PRDC) у условима интензивне свињарске производње не представља изолован, монотипски патолошки процес, већ високо динамичан, мултиетиолошки и полимикробни синдром. Патогенеза PRDC-а је детерминисана сложеним интеракцијама између примарних вирусних и бактеријских агенаса, локалног имунолошког одговора респираторног тракта и технолошких стресора у интензивном узгоју.

1. Патоморфолошке промене установљене су код 62,6% испитаних узорака плућа, 34,6% испитаних узорака душника, 51,5% испитаних узорака тонзила и 62,6% испитаних узорака трахеобронхалних лимфних чворова, што указује на високу учесталост респираторних и придружених лимфоидних лезија код свиња у интензивном узгоју.
2. Висок степен подударности макроскопског и хистопатолошког налаза на плућима (95,6%) потврђује значај макроскопске процене на линији клања као важног алата здравственог мониторинга запата, али и неопходност хистопатолошке анализе у детекцији суптилних, хроничних и субклиничких лезија.
3. Најчешће хистопатолошке промене на плућима биле су интерстицијалне и бронхиоларне лезије, укључујући интерстицијалну пнеумонију, бронхоинтерстицијалну пнеумонију, бронхиолитис и перибронхиолитис, што је у складу са могућом значајном улогом вирусних и микоплазматских инфекција у патогенези респираторних оштећења.
4. Установљена је статистички значајна позитивна корелација између присуства хистопатолошких промена на плућима и душнику ($r = 0,53$; $p < 0,001$), као и између плућа и трахеобронхалних лимфних чворова ($r = 0,53$; $p < 0,001$), што потврђује да PRDC не представља локализовано обољење плућа, већ комплексни процес који истовремено захвата горње и доње дисајне путеве и придружене лимфоидне органе.
5. Молекуларно-генетичким испитивањима доказано је присуство најмање једног респираторног патогена код 70,5% испитаних узорака, при чему је PCV2 био најзаступљенији узрочник и детектован је код 47,7% узорака, *M. hyopneumoniae* код 38,6%, а PRRSV1 код 15,9% испитаних узорака, док геном вируса инфлуенце свиња није детектован ни у једном испитиваном узорку.
6. Највећа заступљеност PCV2 у категорији предтова (90,9% позитивних узорака), уз истовремено присуство интерстицијалних плућних лезија и реактивних промена на лимфоидним органима, указују да је овај вирус имао значајну улогу у одржавању хроничног тока PRDC-а у испитиваном запату, као и у модулацији локалног имунског одговора.
7. У испитиваном запату, *M. hyopneumoniae* се нарочито може довести у везу са настанком и одржавањем бронхиоларних и бронхопнеумоничних лезија, посебно у категоријама одгоја и предтова, што је у складу са њеном познатом улогом једног од кључних примарних патогена у оквиру PRDC-а.
8. Иако је PRRSV1 био мање заступљен у односу на PCV2 и *M. hyopneumoniae*, његово присуство у коинфекцијама било је повезано са комплекснијим хистопатолошким лезијама, што указује на његов значајан имуносупресивни и патогенетски ефекат у развоју комплексних респираторних инфекција.

9. Коинфекције и полиинфекције установљене код јединки са морфолошки сложенијим лезијама, нарочито бронхоинтерстицијалним и гнојним бронхопнеумонијама, указују на могуће удружено деловање испитиваних патогена и потврђују полимикробни карактер PRDC-а.
10. Код прасади на сиси установљене су интерстицијалне и бронхиоларне лезије на плућима, реактивне промене на лимфоидним органима уз присуство PCV2, што указује да патогенетски процеси који доводе до развоја PRDC-а код свиња могу почети већ у најранијем периоду живота.
11. Категорија одгоја представљала је фазу у којој PRDC достиже највећу морфолошку и етиолошку комплексност, са израженом етиолошком разноврсношћу и присуством коинфекција, мешовитих типова пнеумонија и истовремених промена на плућима, душнику, тонзилама и трахеобронхалним лимфним чворовима.
12. Категорија предтова карактерисала се доминантним присуством PCV2, високом учесталосту интерстицијалних и бронхиоларних лезија на плућима, као и израженим реактивним променама на трахеобронхалним лимфним чворовима, што указује да у овој производној фази PRDC добија обележја хроничног и имуно-модулаторног процеса. Најчешће утврђене коинфекције PCV2 и *M. hyopneumoniae* указују на могуће синергистичко деловање ових патогена у одржавању хроничних респираторних и лимфоидних лезија.
13. Код клинички здравих товљеника на линији клања утврђена је релативно ниска учесталост патоморфолошких промена на плућима, које су углавном биле благог интерстицијалног и бронхиоларног карактера, без присуства тешких ексудативних пнеумонија. Молекуларно-генетичким испитивањима је код дела товљеника доказано присуство *M. hyopneumoniae* и PCV2, и поред одсуства изражених клиничких и морфолошких промена, што указује да клинички здраве јединке на линији клања могу представљати носиоце субклиничких или перзистентних респираторних инфекција и имати значајну улогу у одржавању циркулације PRDC патогена у запатима.
14. Резултати имунохистохемијских испитивања CD3 и CD21 позитивних ћелија указују на присуство локалног ћелијског имунског одговора у плућима и душнику испитиваних јединки. У комбинацији са хистопатолошким налазом перибронхиоларних лимфоидних агрегата и реактивних промена у лимфоидном ткиву, ови резултати указују на могући значај локалног мукозног имунитета у патогенези и одржавању хроничног тока PRDC-а.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Aleksić-Kovacević S, Vučićević I, Jovanović I, Prodanov-Radulović J: Epizootiological and morphological character of current respiratory infections of pigs in the Republic of Serbia. Proceeding of 30th seminar of veterinarians of Serbia, Zlatibor 2019, 37-48.
2. Aleksić-Kovačević S: Respiratorni sistem. In: Jovanović M, Aleksić-Kovačević S, Knežević M, Specijalna veterinarska patologija. Beograd, Srbija: Udruženje veterinarskih patologa Srbije; 2019, 145-184.
3. Alexander DJ, Brown IH: Recent zoonoses caused by influenza A viruses. *Revue Scientifique et Technique* 2000, 19: 197-225.
4. Alexander T, Thornton K, Boon G, Lysons R, Gush A: Medicated early weaning to obtain pigs free from pathogens endemic in the herd of origin. *Veterinary Record* 1980, 106: 114-119.
5. Allan GM, McNeilly F, Cassidy JP, Reilly GAC, Adair B, Ellis WA, McNulty MS: Pathogenesis of porcine circovirus; experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Veterinary Microbiology* 1995, 44: 49-64.
6. Allerson M, Deen J, Detmer SE, Gramer MR, Joo HS, Romagosa A, Torremorell M: The impact of maternally derived immunity on influenza A virus transmission in neonatal pig populations. *Vaccine* 2013, 31: 500-505.
7. Aramouni M, Segales J, Sibila M, Martin-Valls GE, Nieto D, Kekarainen T: Torque teno sus virus 1 and 2 viral loads in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) and porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)-affected pigs. *Veterinary Microbiology* 2011, 153: 377-381.
8. Armstrong D, Bishop SC: Does genetics or litter effect influence mortality in PMWS. In: Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress; 2004.
9. Bandrick M, Pieters M, Pijoan C, Molitor T: Passive transfer of maternal *Mycoplasma hyopneumoniae*-specific cellular immunity to piglets. *Clinical and Vaccine Immunology* 2008, 15: 540-543.
10. Baraldi TG, Cruz NRN, Pereira DA, Galdeano JVB, Gatto IRH, Silva AFD, Panzardi A, Linhares DCL, Mathias LA, de Oliveira LG: Antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and influenza virus and their relationships with risk factors, clinical signs and lung lesions in pig farms with one-site production systems in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 2019, 171: 104748.
11. Benfield DA, Christopher-Hennings J, Nelson EA, Rowland RRR, Nelson JK, Chase CCL, Rossow KD, Collins JE: Persistent fetal infection of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Proceedings of the American Association of Swine Practitioners 1997, 455-458.
12. Blanchard B, Vena MM, Cavalier A, Le Lannic J, Gouranton J, Kobisch M: Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 1992, 30: 329-341.
13. Bojkovski J, Nedić S, Arsić S, Mitrović A, Vujanac I, Prodanov-Radulović J, Prodanović R: Diseases of the digestive organs of suckling piglets. Proceedings of the 35th Symposium of Veterinarians of Serbia. Zlatibor, Serbia, 2024, 196-207.
14. Bojkovski J, Pavlović I, Nedić S, Arsić S, Mitrović A, Kureljušić B, Vasić A, Anđelovski B, Prodanović R, Prodanov-Radulović J: Retrospective of Clinical Pathology of Herd Pigs in Extensive and Intensive Breeding. *Scientific Papers Series D Animal Science* 2025, 68: 450-455.
15. Boye M, Jensen TK, Ahrens P, Hagedorn-Olsen T, Friis NF: In situ hybridisation for identification and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyosynoviae* and *Mycoplasma hyorhinis* in formalin-fixed porcine tissue sections. *APMIS* 2001, 109: 656-664.

16. Brinton MA, Gulyaeva AA, Balasuriya UBR, Dunowska M, Faaberg KS, Goldberg T, Leung FCC, Nauwynck HJ, Snijder EJ, Stadejek T, Gorbalenya AE: Proposal 2017.012S.A.v1. Expansion of the Rank Structure of the Family Arteriviridae and Renaming Its Taxa. International Committee on Taxonomy of Viruses 2018.
17. Brockmeier SL, Halbur PG, Thacker EL: Porcine respiratory disease complex. In: Brogden KA, Guthmiller JM, Polymicrobial Diseases. Washington, DC, USA: ASM Press; 2002.
18. Brown IH, Alexander DJ, Chakraverty P, Harris PA, Manvell RJ: Isolation of an influenza A virus of unusual subtype (H1N7) from pigs in England, and the subsequent experimental transmission from pig to pig. *Veterinary Microbiology* 1994, 39: 125-134.
19. Brown IH, Chakraverty P, Harris PA, Alexander DJ: Disease outbreaks in pigs in Great Britain due to an influenza A virus of H1N2 subtype. *Veterinary Record* 1995, 136: 328-329.
20. Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, et al.: Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007, 19: 368-375.
21. Butler JE, Lager KM, Golde W, Faaberg KS, Sinkora M, Loving C, Zhang YI: Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an immune dysregulatory pandemic. *Immunologic Research* 2014, 59: 81-108.
22. Calsamiglia M, Collins JE, Pijoan C: Correlation between the presence of enzootic pneumonia lesions and detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in bronchial swabs by PCR. *Veterinary Microbiology* 2000, 76: 299-303.
23. Cao M, Wei Y, Shi W, Feng L, Huang L: Investigation of porcine circovirus type 2 and porcine circovirus type 3 infections based on dual TaqMan fluorescent quantitative PCR method and genetic evolutionary analysis of these two viruses. *Frontiers in Microbiology* 2024, 15: 1385137.
24. Cardona A, Pijoan C, Dee S: Assessing *Mycoplasma hyopneumoniae* aerosol movement at several distances. *Veterinary Record* 2005, 156: 91-92.
25. Carr J, Chen SP, Connor JF, Kirkwood R, Segales J: Respiratory Disorders. In: Pig Health. New York, USA: CRC Press Taylor & Francis Group; 2018, 103-111.
26. Caruso JP, Ross RF: Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* infections on alveolar macrophage functions in swine. *American Journal of Veterinary Research* 1990, 51: 227-231.
27. Castrucci MR, Donatelli I, Sidoli L, Barigazzi G, Kawaoka Y, Webster RG: Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology* 1993, 193: 503-506.
28. Caswell JL, Williams KJ: Respiratory System. In: Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2015. Volume 2 (Sixth Edition) 5: 465-591.
29. Chae C: A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *Veterinary Journal* 2005, 169: 326-336.
30. Chae C: Porcine respiratory disease complex: interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Journal* 2016, 212: 1-6.
31. Chaimayo C, Dunagan M, Hayashi T, Santoso N, Takimoto T: Specificity and functional interplay between influenza virus PA-X and NS1 shutoff activity. *PLoS Pathogens* 2018, 14: e1007465.
32. Charlebois A, Marois-Crehan C, Helie P, Gagnon CA, Gottschalk M, Archambault M: Genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates of abattoir pigs. *Veterinary Microbiology* 2014, 168: 348-356.
33. Chianini F, Majo N, Segales J, Domingo M: Immunohistological study of the immune system cells in paraffin-embedded tissues of conventional pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2001, 82: 245-255.
34. Christensen NH, Cullinane LC: Monitoring the health of pigs in New Zealand abattoirs. *New Zealand Veterinary Journal* 1990, 38: 136-141.

35. Christianson WT, Joo HS: Porcine reproductive and respiratory syndrome: A review. *Journal of Swine Health and Production* 1994, 2: 10-28.
36. Christopher-Hennings J, Faaberg KS, Murtaugh MP, et al.: Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) diagnostics: Interpretation and limitations. *Journal of Swine Health and Production* 2002, 10: 213-218.
37. Cino-Ozuna AG, Henry S, Hesse R, Nietfeld JC, Bai J, Scott HM, Rowland RRR: Characterization of a new disease syndrome associated with porcine circovirus type 2 in previously vaccinated herds. *Journal of Clinical Microbiology* 2011, 49: 5-10.
38. Collins JE, Benfield DA, Christianson WT, Harris L, Hennings JC, Shaw DP, Goyal SM, McCullough S, Morrison RB, Joo HS, Gorcyca D: Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1992, 4: 117-126.
39. Correa AM, Zlotowski P, de Barcellos DE, da Cruz CE, Driemeier D: Brain lesions in pigs affected with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007, 19: 109-112.
40. Correa-Fiz F, Franzo G, Llorens A, Segales J, Kekarainen T, Sibila M: Porcine circovirus 2 (PCV2) population study in experimentally infected pigs developing PCV2-systemic disease or a subclinical infection. *Scientific Reports* 2020, 10: 17747.
41. Corzo CA, Allerson M, Gramer M, Morrison RB, Torremorell M: Detection of airborne influenza A virus in experimentally infected pigs with maternally derived antibodies. *Transboundary and Emerging Diseases* 2014, 61: 28-36.
42. Corzo CA, Culhane M, Dee S, Morrison RB, Torremorell M: Airborne detection and quantification of swine influenza A virus in air samples collected inside, outside and downwind from swine barns. *PLoS One* 2013, 8: e71444.
43. Corzo CA, Culhane M, Juleen K, Stigger-Rosser E, Ducatez MF, Webby RJ, Lowe JF: Active surveillance for influenza A virus among swine, midwestern United States, 2009-2011. *Emerging Infectious Diseases* 2013, 19: 954-960.
44. Crisci E, Mussa T, Fraile L, Montoya M: Influenza virus in pigs. *Molecular Immunology* 2013, 55: 200-211.
45. Čobanović N, Stajković S, Kureljušić J, Žutić J, Kureljušić B, Stanković SD, Karabasil N: Biochemical, carcass and meat quality alterations associated with different degree of lung lesions in slaughtered pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 2021, 188: 105269.
46. D'Annunzio G, Ostanello F, Muscatello LV, Orioles M, Jacumin N, Tommasini N, Leotti G, Luppi A, Mandrioli L, Sarli G: Porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus alone or associated are frequent intralesional detected viruses in porcine respiratory disease complex cases in Northern Italy. *Frontiers in Veterinary Science* 2023, 10: 1234779.
47. Darwich L, Mateu E: Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Research* 2012, 164: 61-67.
48. Davies PR, Moore MJ, Pointon AM: The association between lesions of pleuritis and enzootic pneumonia in slaughtered pigs. *Proceedings of the 12th International Pig Veterinary Society Congress, The Hague* 1992, 306.
49. De Baere MI, Van Gorp H, Delputte PL, Nauwynck HJ: Interaction of the European genotype porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) with sialoadhesin (CD169/Siglec-1) inhibits alveolar macrophage phagocytosis. *Veterinary Research* 2012, 43: 47.
50. Dea S, Bilodeau R, Sauvageau R, Montpetit C, Martineau GP: Antigenic variant of swine influenza virus causing proliferative and necrotizing pneumonia in pigs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1992, 4: 380-392.
51. Decorte I, Steensels M, Lambrecht B, Cay AB, De Regge N: Detection and isolation of swine influenza A virus in spiked oral fluid and samples from individually housed, experimentally

- infected pigs: Potential role of porcine oral fluid in active influenza A virus surveillance in swine. *PLoS One* 2015, 10: e0139586.
52. Deffner P, Maurer R, Cvjetkovic V, Sipos W, Krejci R, Ritzmann M, Eddicks M: Cross-sectional study on the in-herd prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae* at different stages of pig production. *Veterinary Record* 2022, 191: e1317.
 53. Detmer S, Gramer M, Goyal S, et al.: Diagnostics and surveillance for swine influenza. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2013, 370: 85-112.
 54. Detmer SE: Influenza A virus infection in swine. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, editors. *Diseases of Swine*. 10th ed. Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell; 2012.
 55. Dewulf J, van Immerseel F: Biosecurity in Animal Production and Veterinary Medicine: From Principles to Practice. Leuven, Belgium: Acco; 2018, 295-319.
 56. Dieste-Perez L, van Nes A, van Maanen K, Duinhof T, Tobias T: The prevalence of PCV2 viremia in newborn piglets on four endemically infected Dutch sow farms is very low. *Preventive Veterinary Medicine* 2018, 153: 42-46.
 57. Dors A, Klimowicz-Bodys MD, Kuberka Z, Nowak A, Zebek S, Urbaniak K, Szymanek K, Rzasa A: Detection of infectious agents in lungs of slaughtered pigs in association with cranioventral pulmonary consolidation. *Journal of Veterinary Research* 2025, 69: 353-362.
 58. Došen R, Prodanov-Radulović J, Pušić I, Gagrčin M: Biosecurity measures in villages and rural households. In: Proceedings of the International Conference Prevention of Classical Swine Fever in the Border Region Croatia-Serbia (STOP-KKS). Novi Sad, Serbia; 2012, 306-314.
 59. Drolet R, Thibault S, D'Allaire S, Thomson JR, Done SH: Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): An overview of the disease. *Journal of Swine Health and Production* 1999, 7: 283-285.
 60. Dubosson CR, Conzelmann C, Miserez R, Boerlin P, Frey J, Zimmermann W, Kuhnert P: Development of two real-time PCR assays for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in clinical samples. *Veterinary Microbiology* 2004, 102: 55-65.
 61. Durando P, Iudici R, Alicino C, Alberti M, de Florentis D, Ansaldi F, Icardi G: Adjuvants and alternative routes of administration towards the development of the ideal influenza vaccine. *Human Vaccines* 2011, 7(Suppl.): 29-40.
 62. Dwivedi V, Manickam C, Binjawadagi B, Linhares D, Murtaugh MP, Renukaradhya GJ: Evaluation of immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pigs during early stage of infection under farm conditions. *Virology Journal* 2012, 9: 45.
 63. Eddicks M, Fux R, Krog JS, Ritzmann M, Eddicks L, Stadler J, Nathues H: Detection of porcine circovirus type 2 (PCV2) in suckling piglets and identification of potential risk factors for vertical transmission. *Porcine Health Management* 2022, 8: 30.
 64. Ellis J, Clark E, Haines D, West K, Krakowka S, Kennedy S, Allan GM: Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology* 2004, 98: 159-163.
 65. Ellis JA, Bratanich A, Clark EG, Allan G, Meehan B, Haines DM, Harding J, West KH, Krakowka S, Konoby C, Hassard L, Martin K, McNeilly F: Coinfection by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs with naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2000, 12: 21-27.
 66. Fablet C, Marois-Crehan C, Simon G, Grasland B, Jestin A, Kobisch M, Madec F, Rose N: Infectious agents associated with respiratory diseases in 125 farrow-to-finish pig herds: A cross-sectional study. *Vet Microbiol.* 2012, 157: 152-163.
 67. Fablet C, Simon G, Dorenlor V, Eono F, Eveno E, Gorin S, Queguiner S, Barbier N, Rose N: Different herd level factors associated with H1N1 or H1N2 influenza virus infections in fattening pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 2013, 112: 257-265.

68. Fano E, Pijoan C, Dee S, Deen J: Effect of *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning on disease severity in growing pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2007, 71: 195-200.
69. Fano E, Pijoan C, Dee S: Dynamics and persistence of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2005, 69: 223-228.
70. FAO: Food Outlook—Biannual Report on Global Food Markets. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2023.
71. Feher E, Jakab F, Banyai K: Mechanisms of circovirus immunosuppression and pathogenesis with a focus on porcine circovirus 2: A review. *Veterinary Quarterly* 2023, 43: 1-18.
72. Fiers J, Cay AB, Maes D, Tignon M: A comprehensive review on porcine reproductive and respiratory syndrome virus with emphasis on immunity. *Vaccines* 2024, 12: 942.
73. Filippitzi ME, Brinch Kruse A, Postma M, Sarrazin S, Maes D, Alban L, Nielsen LR, Dewulf J: Review of transmission routes of 24 infectious diseases preventable by biosecurity measures and comparison of the implementation of these measures in pig herds in six European countries. *Transboundary and Emerging Diseases* 2018, 65: 381-398.
74. Finlaison D, Kirkland P, Luong R, Ross A: Survey of porcine circovirus 2 and postweaning multisystemic wasting syndrome in New South Wales piggeries. *Australian Veterinary Journal* 2007, 85: 304-310.
75. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, Osterhaus AD: Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *Journal of Virology* 2005, 79: 2814-2822.
76. Fraile L, Alegre A, Lopez-Jimenez R, Nofrarias M, Segales J: Risk factors associated with pleuritis and cranio-ventral pulmonary consolidation in slaughter-aged pigs. *Veterinary Journal* 2010, 184: 326-333.
77. Franzo G, Segales J: Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLoS One* 2018, 13: e0208585.
78. Galindo-Cardiel I, Grau-Roma L, Perez-Maillou M, et al.: Characterization of necrotizing lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Comparative Pathology* 2011, 144: 63-69.
79. Galindo-Barboza AJ, Rivera-Benitez JF, De la Luz-Armendariz J, Sanchez-Betancourt JI, Hernandez J, Burgara-Estrella AJ, Saucedo-Cerecer SG, Marquez-Valdelamar L, De Alba-Campos JED: Molecular Variation in Porcine Circovirus Type 2 in Jalisco, Mexico, and Its Potential Impact on Vaccine Efficacy. *Vaccines* 2026, 14: 564.
80. Garrido-Mantilla J, Alvarez J, Culhane M, Nirmala J, Cano JP, Torremorell M: Comparison of individual, group and environmental sampling strategies to conduct influenza surveillance in pigs. *BMC Veterinary Research* 2019, 15: 61.
81. Garten RJ, Davis CT, Russell CA, Shu B, Lindstrom S, Balish A, Sessions WM, Xu X, Skepner E, Deyde V, Okomo-Adhiambo M, Gubareva L, Barnes J, Smith CB, Emery SL, Hillman MJ, Rivaller P, Smagala J, de Graaf M, Burke DF, Fouchier RA, Pappas C, Alpuche-Aranda CM, Lopez-Gatell H, Olivera H, Lopez I, Myers CA, Faix D, Blair PJ, Yu C, Keene KM, Dotson PD Jr, Boxrud D, Sambol AR, Abid SH, St George K, Bannerman T, Moore AL, Stringer DJ, Blevins P, Demmler-Harrison GJ, Ginsberg M, Kriner P, Waterman S, Smole S, Guevara HF, Belongia EA, Clark PA, Beatrice ST, Donis R, Katz J, Finelli L, Bridges CB, Shaw M, Jernigan DB, Uyeki TM, Smith DJ, Klimov AI, Cox NJ: Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 2009, 325: 197-201.
82. Gibson-Corley KN, Olivier AK, Meyerholz DK: Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology* 2013, 50: 1007-1015.
83. Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V: Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2009, 23: 1151-1163.

84. Golinar Oven I, Valenčak Z: Porcine respiratory disease complex (PRDC) in Slovenia. Proceedings of the 19th International Pig Veterinary Society Congress, Copenhagen, Denmark, 2006, 291.
85. Gomez-Laguna J, Salguero FJ, Barranco I, Pallares FJ, Rodriguez-Gomez IM, Bernabe A, et al.: Cytokine expression by macrophages in the lung of pigs infected with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Comparative Pathology* 2010, 142: 51-60.
86. Gomez-Laguna J, Salguero FJ, Pallares FJ, Carrasco L: Immuno-pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome in the respiratory tract of pigs. *Veterinary Journal* 2013, 195: 148-155.
87. Grau-Roma L, Fraile L, Segales J: Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Veterinary Journal* 2011, 187: 23-32.
88. Grau-Roma L, Segales J: Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) in Spain. *Veterinary Microbiology* 2007, 119: 144-151.
89. Gresham A, Giles N, Weaver J: PMWS and porcine dermatitis nephropathy syndrome in Great Britain. *Veterinary Record* 2000, 147: 115.
90. Grest P, Keller H, Sydler T, Pospischil A: The prevalence of lung lesions in pigs at slaughter in Switzerland. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde* 1997, 139: 500-506.
91. Grierson SS, King DP, Tucker AW, Donadeu M, Mellencamp MA, et al.: Ontogeny of systemic cellular immunity in the neonatal pig: Correlation with the development of post-weaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2007, 119: 254-268.
92. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, Li PH, Kawaoka Y, Webster RG: Emergence of avian H1N1 influenza viruses in pigs in China. *Journal of Virology* 1996, 70: 8041-8046.
93. Guan Z, Pang L, Ouyang Y, Jiang Y, Zhang J, Qiu Y, Li Z, Li B, Liu K, Shao D, et al.: Secondary Highly Pathogenic Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (HP-PRRSV2) Infection Augments Inflammatory Responses, Clinical Outcomes, and Pathogen Load in *Glaesserella parasuis*-Infected Piglets. *Veterinary Sciences* 2023, 10: 365.
94. Gupta E, Bhalla P, Khurana N, Singh T: Histopathology for the diagnosis of infectious diseases. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2009, 27: 100-106.
95. Ha Y, Lee YH, Ahn KK, Kim B, Chae C: Reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by prenatal porcine circovirus 2 infection and postnatal porcine parvovirus infection or immunostimulation. *Veterinary Pathology* 2008, 45: 842-848.
96. Haines DM, West KH: Immunohistochemistry: Forging the links between immunology and pathology. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2005, 108: 151-156.
97. Hames C, Halbedel S, Hoppert M, Frey J, Stulke J: Glycerol metabolism is important for cytotoxicity of *Mycoplasma pneumoniae*. *Journal of Bacteriology* 2009, 191: 747-753.
98. Han J, Zhou L, Ge X, Guo X, Yang H: Pathogenesis and control of the Chinese highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Microbiology* 2017, 209: 30-47.
99. Hansen MS, Pors SE, Jensen HE, Bille-Hansen V, Bisgaard M, Flachs EM, Nielsen OL: An investigation of the pathology and pathogens associated with porcine respiratory disease complex in Denmark. *Journal of Comparative Pathology* 2010, 143: 120-131.
100. Harms PA, Halbur PG, Sorden SD: Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *Journal of Swine Health and Production* 2002, 10: 27-30.
101. Heinen PP, van Nieuwstadt AP, Pol JM, De Boer-Luijtz EA, Van Oirschot JT, Bianchi AT: Systemic and mucosal isotype-specific antibody responses in pigs to experimental influenza virus infection. *Viral Immunology* 2000, 13: 237-247.

102. Henao-Diaz A, Ji J, Gimenez-Lirola L, Baum DH, Zimmerman J: Understanding and interpreting PRRSV diagnostics in the context of “disease transition stages”. *Research in Veterinary Science* 2020, 131: 173-176.
103. Hill H: In: *Proceedings of the Mystery Swine Disease Committee Meeting*. Denver, USA; 1990, 29.
104. Holst S, Yeske P, Pieters M: Elimination of *Mycoplasma hyopneumoniae* from breed-to-wean farms: A review of current protocols with emphasis on herd closure and medication. *Journal of Swine Health and Production* 2015, 23: 321-330.
105. Holtkamp DJ, Arruda AG, Clavijo MJ, Romagosa A, Torremorell M, Yeske P: Biosecurity, disease control, and elimination. In: *Zimmerman JJ, Burrough ER, Karriker LA, Schwartz KJ, Zhang J, Diseases of Swine*. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell; 2025.
106. Holtkamp DJ, Kliebenstein JB, Neumann EJ, Zimmerman JJ, Rotto HF, Yoder TK, Wang C, Yeske PE, Mowrer CL, Haley CA: Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on United States pork producers. *Journal of Swine Health and Production* 2013, 21: 72-84.
107. Iowa State University–Influenza. Available online: <https://vetmed.iastate.edu/vdpam/FSVD/swine/index-diseases/influenza> (accessed on 26 August 2021).
108. Ivetić V, Savić B, Valter D: Multistemski sindrom kržljanja prasadi posle odlučanja (PMWS) kao jedan od oblika cirkovirusne infekcije. *Veterinarski glasnik* 2004, 58: 409-419.
109. Ivetić V, Žutić M, Valter D, Šamanc H: Mikoplazmatska pneumonija i aktinobacilusna pleuropneumonija – komponente kompleksa respiratorne bolesti (PRDC) svinja. *Zbornik III simpozijuma „Uzgoj i zaštita zdravlja svinja“*, Vršac, Srbija, 2000, 69.
110. Janke BH: Diagnosis of viral respiratory disease in swine. *Journal of Swine Health and Production* 1995, 3: 116-120.
111. Janke BH: Influenza A virus infections in swine: Pathogenesis and diagnosis. *Veterinary Pathology* 2014, 51: 410-426.
112. Jeong J, Kim S, Park KH, Kang I, Park SJ, Park C: Evaluation of the effect of a porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) modified-live virus vaccine on sow reproductive performance in endemic PRRS farms. *Veterinary Microbiology* 2017, 208: 47-52.
113. Jiang B, Li L, Wu Y, Wang X, Gao N, Xu Z, Guo C, He S, Zhang G, Chen Y, et al.: Unveiling Shared Immune Responses in Porcine Alveolar Macrophages during ASFV and PRRSV Infection Using Single-Cell RNA-seq. *Microorganisms* 2024, 12: 563.
114. Jimenez Ruiz S, Laguna E, Vicente J, Garcia Bocanegra I, Martinez Guijosa J, Cano Terriza D, Rialde MA, Acevedo P: Characterization and management of interaction risks between livestock and wild ungulates on outdoor pig farms in Spain. *Porcine Health Management* 2022, 8: 2.
115. Julkunen I, Sareneva T, Pirhonen J, et al.: Molecular pathogenesis of influenza A virus infection and virus-induced regulation of cytokine gene expression. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2001, 12: 171-180.
116. Jung K, Chae C: Expression of Mx protein and interferon-alpha in pigs experimentally infected with swine influenza virus. *Veterinary Pathology* 2006, 43: 161-167.
117. Jung T, Choi C, Chae C: Localization of swine influenza virus in naturally infected pigs. *Veterinary Pathology* 2002, 39: 10-16.
118. Karabasil N, Čobanović N, Vučićević I, Stajković S, Becskei Z, Forgach P, Aleksic – Kovačević S: Association of the severity of lung lesions with carcass and meat quality in slaughter pigs. *Acta Veterinaria Hungarica* 2017, 65, 3: 354-365.
119. Karniychuk UU, Nauwynck HJ: Pathogenesis and prevention of placental and transplacental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Veterinary Research* 2013, 44: 95.

120. Karniychuk UU, Saha D, Geldhof M, et al.: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) causes apoptosis during its replication in fetal implantation sites. *Microbial Pathogenesis* 2011, 51: 194-202.
121. Keffaber KK: Reproductive failure of unknown etiology. *American Association of Swine Practitioners Newsletter* 1989, 1: 1-9.
122. Kim J, Chae C: Necrotizing lymphadenitis associated with porcine circovirus type 2 in pigs. *Veterinary Record* 2005, 156: 177-178.
123. Kim J, Chung HK, Chae C: Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Veterinary Journal* 2003, 166: 251-256.
124. Kleiboeker SB, Schommer SK, Lee SM, Watkins S, Chittick W, Polson D: Simultaneous detection of North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome virus using real-time quantitative reverse transcriptase-PCR. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2005, 17: 165-170.
125. Kolesnikova L, Heck S, Matrosovich T, et al.: Influenza virus budding from the tips of cellular microvilli in differentiated human airway epithelial cells. *Journal of General Virology* 2013, 94: 971-976.
126. Koster F, Gouveia K, Zhou Y, Lowery K, Russell R, MacInnes H, Pollock Z, Layton RC, Cromwell J, Toleno D, Pyle J, Zubelewicz M, Harrod K, Sampath R, Hofstadler S, Gao P, Liu Y, Cheng YS: Exhaled aerosol transmission of pandemic and seasonal H1N1 influenza viruses in the ferret. *PLoS One* 2012, 7: e33118.
127. Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F, Allan G: Viral wasting syndrome of swine: Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Veterinary Pathology* 2000, 37: 254-263.
128. Kumlin U, Olofsson S, Dimock K, Arnberg N: Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2008, 2: 147-154.
129. Landolt GA, Karasin AI, Hofer C, Mahaney J, Svaren J, Olsen CW: Use of real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay and cell culture methods for detection of swine influenza A viruses. *American Journal of Veterinary Research* 2005, 66: 119-124.
130. Lange E, Kalthoff D, Blohm U, et al.: Pathogenesis and transmission of the novel swine-origin influenza virus A/H1N1 after experimental infection of pigs. *Journal of General Virology* 2009, 90: 2119-2123.
131. Langohr IM, Stevenson GW, Nelson EA, et al.: Vascular lesions in pigs experimentally infected with porcine circovirus type 2 serogroup B. *Veterinary Pathology* 2010, 47: 140-147.
132. Larsen DL, Karasin A, Zuckermann F, Olsen CW: Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Veterinary Microbiology* 2000, 74: 117-131.
133. Lebrete A, Boulbria G, Berton P, Moalic PY, Le Guennec J, Bouchet F, Queguiner S, Renson P, Rose N, Fablet C: Monitoring PRRSV-1 in suckling piglets in an endemic herd using reverse transcriptase quantitative real time polymerase chain reaction: comparison of the rate of detection in serum and oral fluid samples and evaluation of pooling. *Porcine Health Management* 2019, 5: 8.
134. Lee JH, Gramer MR, Joo HS: Efficacy of swine influenza A virus vaccines against an H3N2 virus variant. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2007, 71: 207-212.
135. Lemke CD, Haynes JS, Spaete R, Adolphson D, Vorwald AC, Lager KM, Butler JE: Lymphoid hyperplasia resulting in immune dysregulation is caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in neonatal pigs. *Journal of Immunology* 2004, 172: 1916-1925.
136. Li C, Fan A, Liu Z, Wang Y, Wang X, Zhao Y, Zhou X, Zhang H, Sun Y, Qiao S, Zhang G: Prevalence, Time of Infection, and Diversity of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in China. *Viruses* 2024, 16: 774.

137. Lopez A, Martinson SA: Respiratory System, Mediastinum, and Pleurae. In: Maxie MG, Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016, 471-560.
138. Lowen AC, Mubareka S, Steel J, Palese P: Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS Pathogens* 2007, 3: 1470-1476.
139. Lunney JK, Fang Y, Ladely S, Chen N, Li Y, Rowland RRR, Renukaradhya GJ: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): Pathogenesis and interaction with the immune system. *Animal Health Research Reviews* 2010, 11: 1-18.
140. Lunney JK, Fang Y, Ladinig A, Chen N, Li Y, Rowland RRR, Renukaradhya GJ: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): Pathogenesis and interaction with the immune system. *Annual Review of Animal Biosciences* 2016, 4: 129-154.
141. Ma W, Kahn RE, Richt JA: The pig as a mixing vessel for influenza viruses: Human and veterinary implications. *Journal of Molecular and Genetic Medicine* 2009, 3: 158-166.
142. Ma W, Richt JA: Swine influenza vaccines: Current status and future perspectives. *Animal Health Research Reviews* 2010, 11: 81-96.
143. Ma W: Swine influenza virus: Current status and challenge. *Virus Research* 2020, 288: 198118.
144. Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Morvan H, Albina E, Truong C, Hutet E, Cariolet R, Arnould C, Jestin A: La maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP) en France. 1 – Aspects descriptifs, impact en élevage. *Journées de la Recherche Porcine en France* 1999, 31: 347-354.
145. Madson DM, Opriessnig T: Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) infection on reproduction: Disease, vertical transmission, diagnostics and vaccination. *Animal Health Research Reviews* 2011, 12: 47-65.
146. Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, et al.: Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology* 2009, 46: 707-716.
147. Maes D, Segales J, Meyns T, Sibila M, Pieters M, Haesebrouck F: Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs. *Veterinary Microbiology* 2008, 126: 297-309.
148. Maes D, Sibila M, Kuhnert P, Segales J, Haesebrouck F, Pieters M: Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control. *Transbound. Emergency. Dis.* 2018, 65:110-124.
149. Maes D, Verdonck M, Deluyker H, de Kruif A: Enzootic pneumonia in pigs. *Veterinary Quarterly* 1996, 18: 104-109.
150. Maes D: *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. In: CABI Compendium. Wallingford, UK: CABI International; 2022.
151. Maes DG, Deluyker H, Verdonck M, Castryck F, Miry C: Non-infectious factors associated with macroscopic and microscopic lung lesions in slaughter pigs from farrow-to-finish herds. *Veterinary Record* 2001, 148, 41-46.
152. Maes DG, Dewulf J, Pineiro C, Edwards S, Kyriazakis I: A critical reflection on intensive pork production with an emphasis on animal health and welfare. *Journal of Animal Science* 2020, 98: S15-S26.
153. Magyar T, Donko T, Repa I, Kovacs M: Regeneration of toxigenic *Pasteurella multocida* induced severe turbinate atrophy in pigs detected by computed tomography. *BMC Veterinary Research* 2013, 9: 1-7.
154. Maines TR, Lu XH, Erb SM, Edwards L, Guarner J, Greer PW, Nguyen DC, Szretter KJ, Chen LM, Thawatsupha P, Chittaganpitch M, Waicharoen S, Nguyen DT, Nguyen T, Nguyen HH, Kim JH, Hoang LT, Kang C, Phuong LS, Lim W, Zaki S, Donis RO, Cox NJ, Katz JM, Tumpey TM: Avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans in Asia in 2004 exhibit increased virulence in mammals. *Journal of Virology* 2005, 79: 11788-11800.
155. Maity HK, Samanta K, Deb R, Gupta VK: Revisiting porcine circovirus infection: Recent insights and its significance in the piggy sector. *Vaccines* 2023, 11: 1308.

156. Mancera Gracia JC, Pearce DS, Masic A, Balasch M: Influenza A virus in swine: Epidemiology, challenges and vaccination strategies. *Frontiers in Veterinary Science* 2020, 7: 647.
157. Marruchella G, Vaintrub MO, Di Provvido A, Farina E, Fragassi G, Vignola G: Alternative scoring method of pleurisy in slaughtered pigs: Preliminary investigations. *Animals* 2019, 9: 659.
158. Mastin A, Alarcon P, Pfeiffer D, Wood J, Williamson S, Brown I, Wieland B: Prevalence and risk factors for swine influenza virus infection in the English pig population. *PLoS Currents* 2011, 3: RRN1209.
159. Maxie MG (Ed.): *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals*. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2016.
160. Maxie MG: *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Toronto, Ontario, Canada: Saunders Elsevier; 2007, 236-239.
161. McGavin MD, Zachary JF: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. St. Louis, Missouri, USA: Mosby Elsevier; 2007.
162. Meischel T, Villalon Letelier F, Saunders PM, Reading PC, Londrigan SL: Influenza A virus interactions with macrophages: Lessons from epithelial cells. *Cellular Microbiology* 2020, 22: e13170.
163. Meng XJ: Porcine circovirus type 2 (PCV2): Pathogenesis and interaction with the immune system. *Annual Review of Animal Biosciences* 2013, 1: 43-64.
164. Mengeling WL: Porcine parvovirus. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ, editors. *Diseases of Swine*. 9th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing; 2006, 373-378.
165. Meredith MJ: Review of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. *Pig Disease Information Centre* 1992.
166. Merialdi G, Dottori M, Bonilauri P, Luppi A, Gozio S, Pozzi P, Spaggiari B, Martelli P: Survey of pleuritis and pulmonary lesions in pigs at abattoir with a focus on the extent of the condition and herd risk factors. *Veterinary Journal* 2012, 193: 234-239.
167. Messier S, Ross RF: Interactions of *Mycoplasma hyopneumoniae* membranes with porcine lymphocytes. *American Journal of Veterinary Research* 1991, 52: 1497-1502.
168. Meyns T, Maes D, Dewulf J, Vicca J, Haesebrouck F, de Kruif A: Quantification of the spread of *Mycoplasma hyopneumoniae* in nursery pigs using transmission experiments. *Preventive Veterinary Medicine* 2004, 66: 265-275.
169. Meyns T, Van Steelant J, Rolly E, Dewulf J, Haesebrouck F, Maes D: A cross-sectional study of risk factors associated with pulmonary lesions in pigs at slaughter. *Veterinary Journal* 2011, 187: 388-392.
170. Michiels A, Piepers S, Ulens T, Van Ransbeeck N, Del Pozo Sacristan R, Sierens A, Maes D: Impact of particulate matter and ammonia on average daily weight gain, mortality and lung lesions in pigs. *Preventive Veterinary Medicine* 2015, 121: 99-107.
171. Michiels A, Vranckx K, Piepers S, Del Pozo Sacristan R, Arsenakis I, Boyen F, Maes D: Impact of diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* strains on lung lesions in slaughter pigs. *Veterinary Research* 2017, 48: 2.
172. Montaner-Tarbes S, del Portillo HA, Montoya M, Fraile L: Key gaps in the knowledge of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Frontiers in Veterinary Science* 2019, 6: 38.
173. Moore C: Clinical presentation of mystery swine disease in growing pig. *Proceedings of the Mystery Swine Disease Committee Meeting*. Denver, USA; 1990, 173-175.
174. Moorkamp L, Hewicker-Trautwein M, Grosse Beilage E: Occurrence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in coughing piglets (3-6 weeks of age) from 50 herds with a history of endemic respiratory disease. *Transboundary and Emerging Diseases* 2009, 56: 54-56.
175. Morandi F, Ostanello F, Fusaro L, Bacci B, Nigrelli A, Alborali GL, Dottori M, Vezzoli F, Barigazzi G, Fiorentini L, et al.: Immunohistochemical detection of aetiological agents of

- proliferative and necrotizing pneumonia in Italian pigs. *Journal of Comparative Pathology* 2010, 142: 74-78.
176. Morgan SB, Frossard JP, Pallares FJ, Gough J, Stadejek T, Graham SP, Steinbach F, Drew TW, Salguero FJ: Pathology and virus distribution in the lung and lymphoid tissues of pigs experimentally inoculated with three distinct type 1 PRRS virus isolates of varying pathogenicity. *Transboundary and Emerging Diseases* 2016, 63: 285-295.
 177. Morin M, Girard C, Elazhary Y, Fajardo R, Drolet RL: Severe proliferative and necrotizing pneumonia in pigs: A newly recognized disease. *Canadian Veterinary Journal* 1990, 31: 837.
 178. Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Kusser K, Hartson L, Sprague F, Goodrich S, Woodland DL, Lund FE, Randall TD: Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. *Nature Medicine* 2004, 10: 927-934.
 179. Murtaugh MP, Elam MR, Kakach LT: Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus. *Archives of Virology* 1995, 140: 1451-1460.
 180. Nathues H, Doebling S, Woeste H, Fahrion AS, Doherr MG, Grosse Beilage E: Individual risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling pigs at the age of weaning. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2013b, 55: 44.
 181. Nathues H, Grosse Beilage E, Kreienbrock L, Rosengarten R, Spergser J: RAPD and VNTR analyses demonstrate genotypic heterogeneity of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates from pigs housed in a region with high pig density. *Veterinary Microbiology* 2011, 152: 338-345.
 182. Nathues H, Spergser J, Rosengarten R, Kreienbrock L, Grosse Beilage E: Value of the clinical examination in diagnosing enzootic pneumonia in fattening pigs. *Veterinary Journal* 2012, 193: 443-447.
 183. Nathues H, Woeste H, Doebling S, Fahrion AS, Doherr MG, Grosse Beilage E: Herd specific risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling pigs at the age of weaning. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2013a, 55: 30.
 184. Nauwynck HJ, Duan X, Favoreel HW, Van Oostveldt P, Pensaert MB: Entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages via receptor-mediated endocytosis. *Journal of General Virology* 1999, 80: 297-305.
 185. Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH: Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2005, 227: 385-392.
 186. Novosel D, Petrović T, Acinger-Rogić Ž, Štukelj M: Epidemiology and status of porcine reproductive and respiratory syndrome in the Western Balkan region: challenges and prospects. *Slovenian Veterinary Research* 2016, 53: 185-193.
 187. Obradovic MR, Segura M, Segales J, Gottschalk M: Review of the speculative role of co-infections in *Streptococcus suis*-associated diseases in pigs. *Veterinary Research* 2021, 52: 1-22.
 188. Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segales J, Domingo M: Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *Journal of Virological Methods* 2004, 117: 75-80.
 189. Opriessnig T, Fenaux M, Thomas P, Hoogland MJ, Rothschild MF, et al.: Evidence of breed-dependent differences in susceptibility to porcine circovirus type 2-associated disease and lesions. *Veterinary Pathology* 2006a, 43: 281-293.
 190. Opriessnig T, Gimenez-Lirola LG, Halbur PG: Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews* 2011, 12: 133-148.
 191. Opriessnig T, Langohr I: Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. *Veterinary Pathology* 2012, 50: 23-38.

192. Opriessnig T, McKeown NE, Harmon KL, Meng XJ, Halbur PG: Porcine circovirus type 2 infection decreases the efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine. *Clinical and Vaccine Immunology* 2006b, 13: 923-929.
193. Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG: Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2007, 19: 591-615.
194. Opriessnig T, Patterson AR, Madson DM, Pal N, Rothschild M, et al.: Difference in severity of porcine circovirus type 2-induced pathological lesions between Landrace and Pietrain pigs. *Journal of Animal Science* 2009, 87: 1582-1590.
195. Opriessnig T, Thacker EL, Yu S, Fenaux M, Meng XJ, Halbur PG: Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology* 2004, 41: 624-640.
196. Opriessnig T, Xiao CT, Gerber PF, Halbur PG: Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the U.S. concurrently infected with PPV2. *Veterinary Microbiology* 2013, 163: 177-183.
197. Osborne AD, Saunders JR, Sebunya T: An abattoir survey of the incidence of pneumonia in Saskatchewan swine and an investigation of the microbiology of affected lungs. *Canadian Veterinary Journal* 1981, 22: 82-85.
198. Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J: Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology* 2010, 145: 198-208.
199. Ouyang T, Zhang X, Liu X, and Ren L: Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 2019, 11:185.
200. Pallares FJ, Anon J, Rodriguez-Gomez IM, Gomez-Laguna J, Fabre R, Sanchez-Carvajal JM, Ruedas-Torres I, Carrasco L: Prevalence of mycoplasma-like lung lesions in pigs from commercial farms from Spain and Portugal. *Porcine Health Management* 2021, 7: 26.
201. Pantoja L, Pettit K, Dos Santos L, Tubbs R, Pieters M: *Mycoplasma hyopneumoniae* genetic variability within a swine operation. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2016, 28: 175-179.
202. Park H, Liu G, Raman NT, Landreth SL: NS1 protein of 2009 pandemic influenza A virus inhibits porcine NLRP3 inflammasome-mediated interleukin 1 beta production by suppressing ASC ubiquitination. *Journal of Virology* 2018, 92: e00022-18.
203. Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, et al.: Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *Journal of Comparative Pathology* 2005, 132: 139-144.
204. Paz-Sanchez Y, Herraiz P, Quesada-Canales O, Poveda CG, Diaz-Delgado J, Quintana-Montesdeoca MDP, Stefanova EP, Andrada M: Assessment of Lung Disease in Finishing Pigs at Slaughter: Pulmonary Lesions and Implications on Productivity Parameters. *Animals* 2021, 11: 3604.
205. Pejsak Z, Stadejek T, Markowska-Daniel I: Clinical signs and economic losses caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large breeding farm. *Veterinary Microbiology* 1997, 55: 317-322.
206. Pensaert MB, Sanchez RE Jr, Ladekjaer-Mikkelsen AS, Allan GM, Nauwynck HJ: Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Veterinary Microbiology* 2004, 98: 175-183.
207. Petrović T, Milićević V, Prodanov-Radulović J, Maksimović-Zorić J, Lupulović D, Došen R, Lazić S: Molecular detection and genetic analysis of Serbian PRRSV isolates. *Proceedings of EuroPRRS2011 "Understanding and Combating PRRS in Europe" COST Action FA0902*. 2011, 50-56.
208. Pieters M, Cline GS, Payne BJ, Prado C, Ertl JR, Rendahl AK: Intra-farm risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* colonization at weaning age. *Veterinary Microbiology* 2014, 172: 575-580.

209. Pieters M, Pijoan C, Fano E, Dee S: An assessment of the duration of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in an experimentally infected population of pigs. *Veterinary Microbiology* 2009, 134: 261-266.
210. Pieters MG, Maes D: Mycoplasmosis. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, Diseases of Swine. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell; 2019, 863-883.
211. Pileri E, Gibert E, Soldevila F, Garcia-Saenz A, Pujols J, Diaz I, Darwich I, Casal J, Martin M, Mateu E: Vaccination with genotype 1 modified live vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome virus significantly reduces viraemia, viral shedding and transmission of the virus in a quasi-natural experimental model. *Veterinary Microbiology* 2015, 175: 7-16.
212. Poljak Z, Dewey CE, Martin SW, Christensen J, Carman S, Friendship RM: Prevalence of and risk factors for influenza in southern Ontario swine herds in 2001 and 2003. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2008, 72: 7-17.
213. Pomorska-Mol M, Dors A, Kwit K, Kowalczyk A, Stasiak E, Pejsak Z: Kinetics of single and dual infection of pigs with swine influenza virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 2017, 201: 113-120.
214. Postma M, Backhans A, Collineau L, Loesken S, Sjolund M, Belloc C, Emanuelson U, Grosse Beilage E, Stark KDC, Dewulf J: The biosecurity status and its associations with production and management characteristics in farrow-to-finish pig herds. *Animal* 2016, 10: 478-489.
215. Prodanov-Radulović J, Došen R, Stojanov I, Petrović T, Polaček V, Grgić Ž, Marčić D: Etiology and diagnostics of porcine respiratory syndrome on a pig farm in the Republic of Serbia. *Proceedings of the 7th European Symposium of Porcine Health Management*. Nantes, France, 2015, 147.
216. Prodanov-Radulović J, Petrović T, Lupulović D, Marčić D, Petrović J, Grgić Ž, Lazić S: First detection and clinical presentation of Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in Serbia. *Acta Veterinaria-Beograd* 2017, 67: 383-396.
217. Prodanov-Radulović J, Vučičević I, Polaček V, Aleksić-Kovačević S: Current swine respiratory diseases morphology in intensive swine production in Serbia. *Acta Veterinaria-Beograd* 2020, 70(1): 1-36.
218. Przyborowska-Zhalniarovich P, Maes D, Otrocka-Domagala I, Pazdzior-Czapula K, Wiszniewska-Laszczych A, Soltysiuk M: Association between enzootic pneumonia-like lung lesions and carcass quality and meat pH value in slaughter pigs. *Animals* 2023, 13: 2210.
219. Qin S, Ruan W, Yue H, Tang C, Zhou K, Zhang B: Viral communities associated with porcine respiratory disease complex in intensive commercial farms in Sichuan province, China. *Scientific Reports* 2018, 8: 13341.
220. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Ames, Iowa, USA: Blackwell Science; 2002.
221. Radojičić S, Valčić M, Đuričić B: *Infektivne bolesti životinja, specijalni deo*. Beograd, Srbija: Naučna KMD; 2011.
222. Ramamoorthy S, Meng XJ: Porcine circoviruses: A minuscule yet mammoth paradox. *Animal Health Research Reviews* 2009, 10: 1-20.
223. Raymond BBA, Turnbull L, Jenkins C, et al.: *Mycoplasma hyopneumoniae* resides intracellularly within porcine epithelial cells. *Scientific Reports* 2018, 8: 17697.
224. Recchia M, Ghidini S, Romeo C, Scali F, Maisano AM, Guadagno F, De Luca S, Ianieri A, Alborali GL: An integrated analysis of abattoir lung lesion scores and antimicrobial use in Italian heavy pig finishing farms. *Animals* 2024, 14: 1621.
225. Redondo E, Masot AJ, Fernandez A, Gazquez A: Histopathological and Immunohistochemical Findings in the Lungs of Pigs Infected Experimentally with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Journal of Comparative Pathology* 2009, 140: 260-270.

226. Register KB, Brockmeier SL, de Jong MF, Pijoan C: Pasteurellosis. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Diseases of Swine. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing; 2012, 798-810.
227. Rekik MR, Arora DJ, Dea S: Genetic variation in swine influenza virus A isolate associated with proliferative and necrotizing pneumonia in pigs. *Journal of Clinical Microbiology* 1994, 32: 515-518.
228. Ren L, Chen X, Ouyang H: Interactions of porcine circovirus 2 with its hosts. *Virus Genes* 2016, 52: 437-444.
229. Richt JA, Lager KM, Clouser DF, Spackman E, Suarez DL, Yoon KJ: Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assays for the detection and differentiation of North American swine influenza viruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2004, 16: 367-373.
230. Rodriguez-Arrioja GM, Segales J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Duran J, Casal J, Domingo M: Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research* 2002, 63: 354-357.
231. Rodriguez-Gomez IM, Sanchez-Carvajal JM, Pallares FJ, Mateu E, Carrasco L, Gomez-Laguna J: Virulent Lena strain induced an earlier and stronger downregulation of CD163 in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Microbiology* 2019, 235: 101-109.
232. Romagosa A, Allerson M, Gramer M, Joo HS, Deen J, Detmer S, Torremorell M: Vaccination of influenza A virus decreases transmission rates in pigs. *Veterinary Research* 2011, 42: 120.
233. Roos LR, Fano E, Homwong N, Payne B, Pieters M: A model to investigate the optimal seeder-to-naïve ratio for successful natural *Mycoplasma hyopneumoniae* gilt exposure prior to entering the breeding herd. *Veterinary Microbiology* 2016, 184: 51-58.
234. Rose N, Opriessnig T, Grasland B, Jestin A: Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Research* 2012, 164: 78-89.
235. Rosell C, Segales J, Plana-Duran J, Balasch M, Rodriguez-Arrioja GM, Kennedy S, Allan GM, McNeilly F, Latimer KS, Domingo M: Pathological, immunohistochemical, and in situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Journal of Comparative Pathology* 1999, 120: 59-78.
236. Rovira A, Balasch M, Segales J, Garcia L, Plana-Duran J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A, Domingo M: Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *Journal of Virology* 2002, 76: 3232-3239.
237. Ruedas-Torres I, Sanchez-Carvajal JM, Salguero FJ, Pallares FJ, Carrasco L, Mateu E, Gomez-Laguna J, Rodriguez-Gomez IM: The scene of lung pathology during PRRSV-1 infection. *Frontiers in Veterinary Science* 2024, 11: 1330990.
238. Ruggeri J, Salogni C, Giovannini S, Vitale N, Boniotti MB, Corradi A, Pozzi P, Pasquali P, Alborali GL: Association between infectious agents and lesions in post-weaned piglets and fattening heavy pigs with porcine respiratory disease complex (PRDC). *Frontiers in Veterinary Science* 2020, 7: 636.
239. Saade G, Deblanc C, Bougon J, Marois-Crehan C, Fablet C, Auray G, Belloc C, Leblanc-Maridor M, Gagnon CA, Zhu J, Gottschalk M, Summerfield A, Simon G, Bertho N, Meurens F: Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. *Veterinary Research* 2020, 51: 80.
240. Sarli G, D'Annunzio G, Gobbo F, Benazzi C, Ostanello F: The Role of Pathology in the Diagnosis of Swine Respiratory Disease. *Veterinary Sciences* 2021, 8: 256.
241. Sarli G, Mandrioli L, Panarese S, et al.: Characterization of interstitial nephritis in pigs with naturally occurring postweaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Pathology* 2008, 45: 12-18.

242. Sarrazin S, Joosten P, Van Gompel L, Luiken REC, Mevius DJ, Wagenaar JA, Heederik DJJ, Dewulf J: Quantitative and qualitative analysis of antimicrobial usage patterns in 180 selected farrow-to-finish pig farms from nine European countries based on single batch and purchase data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2019, 74: 807-816.
243. SAS Inst. Inc., 2002-2010. The SAS System for Windows, Cary, NC.
244. Savić B, Ivetić V, Milićević V, Pavlović I, Žutić M, Gagrčin M: Genetic diversity of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolates from conventional farrow-to-finish pig farms in Serbia. *Acta Veterinaria Hungarica* 2010, 58: 297-308.
245. Savić B, Ivetić V, Žutić M, Pavlović I, Kureljušić B: Significance of *Mycoplasma hyopneumoniae* in the respiratory disease complex of pigs. *Proceedings of the 8th Symposium Health Care and Selective Reproduction of Pigs with International Participation*. Srebrno Jezero, Serbia, 2010, 57-64.
246. Savić B, Radanović O, Jovičić D, Nešić K, Ivanović S, Stevančević O, Cvetojević Đ, Kasagić D: Survey of infectious agents associated with porcine respiratory disease complex (PRDC) in serbian swine herds using polymerase chain reaction (PCR) detection. *Acta Veterinaria-Beograd* 2015, 65(1): 79-88.
247. Schneider JD, Yoon KJ: Characterization of H3N2 swine influenza viruses in Iowa swine. *Proceedings of the American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting*. Nashville, Tennessee, USA; 2001, 23-25.
248. Schultz-Cherry S, Olsen CW, Easterday BC: History of swine influenza. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2012, 370: 21-28.
249. Seeliger FA, Brugmann ML, Kruger L, et al.: Porcine circovirus type 2-associated cerebellar vasculitis in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected pigs. *Veterinary Pathology* 2007, 44: 621-634.
250. Segales J, Allan GM, Domingo M: Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 2005, 6: 119-142.
251. Segales J, Domingo M, Grau-Roma L, Bollo E, Pujols J, Sorden SD, Plana-Duran J, Balasch M: Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Veterinary Microbiology* 2004, 98: 137-149.
252. Segales J, Domingo M: Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Veterinary Quarterly* 2002, 24: 109-124.
253. Segales J, Piella J, Marco E, Mateu-de-Antonio EM, Espuna E, Domingo M: Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Veterinary Record* 1998, 142: 483-486.
254. Segales J, Sibila M: Revisiting porcine circovirus disease diagnostic criteria in the current porcine circovirus 2 epidemiological context. *Veterinary Sciences* 2022, 9: 110.
255. Segales J: Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 2012, 164: 10-19.
256. Segales J, Franzo G, Larsen LE, Nauwynck H, Opriessnig T, Stadejek T, Vannucci F: Knowledge gaps in research and control of porcine circovirus 2 (PCV2) infections. *BMC Veterinary Research* 2026, 22: 14.
257. Shi M, Lam TTY, Hon CC, Murtaugh MP, Davies PR, Hui RKH, Li J, Wong LT, Yip CW, Jiang JW, Leung FCC: Phylogeny-Based Evolutionary, Demographical, and Geographical Dissection of North American Type 2 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses. *Journal of Virology* 2010, 84: 8700-8711.
258. Shibata I, Okuda Y, Kitajima K, Asai T: Shedding of porcine circovirus into colostrum of sows. *Journal of Veterinary Medicine B* 2006, 53: 278-280.
259. Sibila M, Nofrarias M, Lopez-Soria S, Segales J, Valero O, Espinal A, Calsamiglia M: Chronological study of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection, seroconversion and associated lung lesions in vaccinated and non-vaccinated pigs. *Veterinary Microbiology* 2007, 122: 97-107.

260. Sibila M, Pieters M, Molitor T, Maes D, Haesebrouck F, Segales J: Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection. *Vet J* 2009, 181:221–231.
261. Sinkora M, Butler JE, Lager KM, Potockova H, Sinkorova J: The comparative profile of lymphoid cells and the T and B cell spectratype of germ-free piglets infected with viruses SIV, PRRSV or PCV2. *Veterinary Research* 2014, 45: 91.
262. Smith GJ, Vijaykrishna D, Bahl J, Lycett SJ, Worobey M, Pybus OG, Ma SK, Cheung CL, Raghvani J, Bhatt S, Peiris JS, Guan Y, Rambaut A: Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. *Nature* 2009, 459: 1122-1125.
263. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, Perdue ML, Lohman K, Daum LT, Suarez DL: Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40: 3256-3260.
264. Sreta D, Kedkovid R, Tuamsang S, Kitikoon P, Thanawongnuwech R: Pathogenesis of swine influenza virus (Thai isolates) in weanling pigs: an experimental trial. *Virology Journal* 2009, 6: 34.
265. Stadejek T, Oleksiewicz MB, Potapchuk D, Podgórska K: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *Journal of General Virology* 2006, 87: 1835-1841.
266. Stark KDC, Miserez R, Siegmann S, Ochs H, Infanger P, Schmidt J: A successful national control programme for enzootic respiratory diseases in pigs in Switzerland. *Revue Scientifique et Technique* 2007, 26: 595-606.
267. Stoian AMM, Rowland RRR, Brandariz-Nunez A: Identification of CD163 regions that are required for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection but not for binding to viral envelope glycoproteins. *Virology* 2022, 574: 71-83.
268. Strait EL, Madsen ML, Minion FC, Christopher-Hennings J, Dammen M, Jones KR, Thacker EL: Real-Time PCR Assays To Address Genetic Diversity among Strains of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology* 2008, 46: 2491-2498.
269. Summerfield A, McCullough KC: Dendritic cells in innate and adaptive immune responses against influenza virus. *Viruses* 2009, 1: 1022-1034.
270. Sunaga F, Tsuchiaka S, Kishimoto M, Aoki H, Kakinoki M, Kure K, Okumura H, Okumura M, Okumura A, Nagai M, et al.: Development of a one-run real-time PCR detection system for pathogens associated with porcine respiratory diseases. *Journal of Veterinary Medical Science* 2020, 82: 217-223.
271. Szeredi L, Dan A, Makrai L, Takacs N, Biksi I: Acute tracheal oedema and haemorrhage with fibrinonecrotic tracheitis in pigs--a porcine counterpart of bovine honker syndrome? *Journal of Comparative Pathology* 2015, 152: 206-210.
272. Šamanc H: Bolesti svinja. Beograd, Srbija: Naučna KMD; 2009.
273. Tacchi JL, Raymond BBA, Haynes PA, Berry IJ, Widjaja M, Bogema DR, Djordjevic SP: Post-translational processing targets functionally diverse proteins in *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Open Biology* 2016, 6: 150210.
274. Tani S, Pineiro C, Koketsu Y: High-performing farms exploit reproductive potential of high and low prolific sows better than low-performing farms. *Porcine Health Management* 2018, 4: 15.
275. Thacker EL, Halbur PG, Ross RF, Thanawongnuwech R, Thacker BJ: *Mycoplasma hyopneumoniae* potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37: 620-627.
276. Thacker EL, Minion FC: Mycoplasmosis. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Schwartz KJ, (eds.): *Disease of Swine*, 10th ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2012, 779-797.
277. Thacker EL, Thacker BJ, Kuhn M, Hawkins PA, Waters WR: Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a *Mycoplasma*

- hyopneumoniae bacterin to pigs. American Journal of Veterinary Research 2000, 61: 1384-1389.
278. Thacker EL: Mycoplasmal Diseases. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ: Diseases of Swine, 9th ed. Ames, IA: Blackwell Publishing; 2006, 33: 701–718.
 279. Thanawongnuwech R, Brown GB, Halbur PG, Roth JA, Royer RL, Thacker BJ: Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility to *Streptococcus suis* infection. Veterinary Pathology 2000, 37: 143-152.
 280. Thanawongnuwech R, Young TF, Thacker BJ, Thacker EL: Differential production of proinflammatory cytokines: in vitro PRRSV and Mycoplasma hyopneumoniae coinfection model. Veterinary Immunology and Immunopathology 2001, 79: 115-127.
 281. Thomasmeyer A, Reineking W, Hewicker-Trautwein M: Histological and immunohistochemical characterization of mucosa-associated lymphoid tissue and antigen-presenting cells in trachea and lung of cattle. Anatomia, Histologia, Embryologia 2023, 52: 989-1002.
 282. Tico G, Segales J, Martinez J: The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. Veterinary Microbiology 2013, 163: 242-247.
 283. Tong S, Li Y, Rivaller P, Conrardy C, Castillo DA, Chen LM, Recuenco S, Ellison JA, Davis CT, York IA, Turmelle AS, Moran D, Rogers S, Shi M, Tao Y, Weil MR, Tang K, Rowe LA, Sammons S, Xu X, Frace M, Lindblade KA, Cox NJ, Anderson LJ, Rupprecht CE, Donis RO: A distinct lineage of influenza A virus from bats. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2012, 109: 4269-4274.
 284. Tong S, Zhu X, Li Y, Shi M, Zhang J, Bourgeois M, Yang H, Chen X, Recuenco S, Gomez J, Chen LM, Johnson A, Tao Y, Dreyfus C, Yu W, McBride R, Carney PJ, Gilbert AT, Chang J, Guo Z, Davis CT, Paulson JC, Stevens J, Rupprecht CE, Holmes EC, Wilson IA, Donis RO: New world bats harbor diverse influenza A viruses. PLoS Pathogens 2013, 9: e1003657.
 285. Tonni M, Bergamini F, Tinterri C, Sala V, Luppi A, Viglietti A, Ferrari N, Nathues H, Grosse Beilage E, Rosengarten R, Kemmerling K, Maes D, Martelli P: Genomic variability of Mycoplasma hyopneumoniae within pig lung lobes. Porcine Health Management 2021, 7: 22.
 286. Trang NT, Hirai T, Yamamoto T, Matsuda M, Okumura N, Giang NTH, Lan NT, Yamaguchi R: Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in oral fluid from naturally infected pigs in a breeding herd. Journal of Veterinary Science 2014, 15: 361-367.
 287. Tribble BR, Rowland RRR: Genetic variation of porcine circovirus type 2 (PCV2) and its relevance to vaccination, pathogenesis and diagnosis. Virus Research 2012, 164: 68-77.
 288. Van Reeth K, Nauwynck H, Pensaert M: Clinical effects of experimental dual infections with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by swine influenza virus in conventional and colostrum-deprived pigs. Journal of Veterinary Medicine Series B 2001, 48: 283-292.
 289. Van Reeth K, Vincent AL: Influenza Viruses. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, Diseases of Swine. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell; 2019, 576-593.
 290. Vangroenweghe FACJ, Labarque GG, Piepers S, Strutzberg-Minder K, Maes D: Mycoplasma hyopneumoniae infections in peri-weaned and post-weaned pigs in Belgium and The Netherlands: Prevalence and associations with climatic conditions. Veterinary Journal 2015, 205: 93-97.
 291. Vangroenweghe FACJ, Thas O: Seasonal variation in prevalence of Mycoplasma hyopneumoniae and other respiratory pathogens in peri-weaned, post-weaned, and fattening pigs with clinical signs of respiratory diseases in Belgian and Dutch pig herds, using a tracheobronchial swab sampling technique, and their associations with local weather conditions. Pathogens 2021, 10: 1202.

292. Vasavi K, Deepa P, Rather MM, Sravathi V, Supriya R, Singh S: Porcine circovirus type 2 (PCV-2) and its economic implications: A brief review. *Pharma Innovation Journal* 2023, 12: 2692-2697.
293. Villarreal I, Maes D, Meyns T, Gebruers F, Calus D, Pasmans F, Haesebrouck F: Infection with a low virulent *Mycoplasma hyopneumoniae* isolate does not protect piglets against subsequent infection with a highly virulent *M. hyopneumoniae* isolate. *Vaccine* 2009, 27: 1875-1879.
294. Vincent LL, Janke BH, Paul PS, Halbur PG: A monoclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of swine influenza virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1997, 9: 191-195.
295. Vranckx K, Maes D, Del Pozo Sacristan R, Pasmans F, Haesebrouck F: A longitudinal study of the diversity and dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pig herds. *Veterinary Microbiology* 2012, 156: 315-321.
296. Wagner J, Kneucker A, Liebler-Tenorio E, Fachinger V, Glaser M, Pesch S, Murtaugh MP, Reinhold P: Respiratory function and pulmonary lesions in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet J* 2010, 18:310–319.
297. Wagstrom EA, Chang CC, Yoon KJ, Zimmerman JJ: Shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in mammary gland secretions of sows. *American Journal of Veterinary Research* 2001, 62: 1876-1880.
298. Wallgren P, Pettersson E: Lungworms (*Metastrongylus* spp.) demonstrated in domestic pigs with respiratory disease: was there a clinical relevance? *Porcine Health Management* 2022, 8: 16.
299. Weber N, Nielsen JP, Jakobsen AS, Baadsgaard NP, Haugegaard S, Hansen CF: Occurrence of diarrhoea and intestinal pathogens in non-medicated nursery pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2015, 57: 64.
300. Weingartl HM, Albrecht RA, Lager KM, Babiuk S, Marszal P, Neufeld J, Embury-Hyatt C, Lekcharoensuk P, Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Richt JA: Experimental infection of pigs with the human 1918 pandemic influenza virus. *Journal of Virology* 2009, 83: 4287-4296.
301. Wensvoort G, de Kluyver EP, Luijtz EA, den Besten A, Harris L, Collins JE, Christianson WT, Chladek D: Antigenic comparison of Lelystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1992, 4: 134-138.
302. Wensvoort G, Terpstra C, Pol JMA, ter Laak EA, Bloemraad M, de Kluyver EP, Wagenaar F, Broekhuijsen JM, Moonen PLJM, Zetstra T, de Boer EA, Tibben HJ, de Jong MF, van 't Veld P, Greenland GJR, van Gennep JA, Voets MTh, Verheijden JHM, Braamskamp J: Mystery swine disease in the Netherlands: the isolation of Lelystad virus. *Veterinary Quarterly* 1991, 13: 121-130.
303. West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM, Haines DM, Clark EG, Krakowka S, McNeilly F, et al.: Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1999, 11: 530-532.
304. White MEC: The clinical signs and symptoms of blue-eared pig disease (PRRS). *Pig Veterinary Journal* 1992, 28: 62-68.
305. Whitworth KM, Rowland RRR, Ewen CL, Tribble BR, Kerrigan MA, Cino-Ozuna AG, Samuel MS, Lightner JE, McLaren DG, Mileham AJ, Wells KD, Prather RS: Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Nature Biotechnology* 2016, 34: 20-22.
306. Wills RW, Doster AR, Galeota JA, Sur JH, Osorio FA: Duration of infection and proportion of pigs persistently infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Clinical Microbiology* 2003, 41: 58-62.

307. Wills RW, Zimmerman JJ, Yoon KJ, Swenson SL, McGinley MJ, Hill HT, Platt KB, Christopher-Hennings J, Nelson EA: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: A persistent infection. *Veterinary Microbiology* 1997, 55: 231-240.
308. Yaeger MJ, Alstine WG: Respiratory System. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, Diseases of Swine. Hoboken, NJ, USA: Wiley; 2019, 393-407.
309. Yazawa S, Okada M, Ono M, Fujii S, Okuda Y, Shibata I, Kida H: Experimental dual infection of pigs with an H1N1 swine influenza virus (A/Sw/Hok/2/81) and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Microbiology* 2004, 98: 221-228.
310. Zhang J, Wang P, Xie C, Ha Z, Shi N, Zhang H, Li Z, Han J, Xie Y, Qiu X, Tao Y, Jin N, Lu H: Synergistic pathogenicity by coinfection and sequential infection with NADC30-like PRRSV and PCV2 in post-weaned pigs. *Viruses* 2022, 14: 193.
311. Zhou H, Pan Y, Liu M, Han Z: Prevalence of porcine pseudorabies virus and its coinfection rate in Heilongjiang Province in China from 2013 to 2018. *Viral Immunology* 2020, 33: 550-554.
312. Zimmerman J, 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. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing; 2006, 387-419.
313. Zimmerman JJ, Benfield DA, Dee SA, Murtaugh MP, Stadejek T, Stevenson GW, Torremorell M: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Diseases of Swine. Ames, IA, USA: Wiley-Blackwell; 2012, 461-486.
314. Zimmerman JJ, Dee SA, Holtkamp DJ, Murtaugh MP, Stadejek T, Stevenson GW, Torremorell M, Yang H, Zhang J: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses (Porcine Arteriviruses). In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J, Diseases of Swine. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell; 2019, 685-708.

9. БИОГРАФИЈА

Илија Јовановић је рођен 20. августа 1991. године у Прокупљу. Основну школу завршио је 2006. године у Прокупљу као добитник Вукове дипломе, а средњу пољопривредну школу у Прокупљу, образовни профил ветеринарски техничар, завршио је 2010. године као ђак генерације.

Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду уписао је 2010. године. Интегрисане основне и мастер академске студије завршио је 2016. године са просечном оценом 9,81 (девет и 81/100). Дипломирао је на Катедри за породиљство, стерилитет и вештачко осеменавање, успешном одбраном дипломског рада под називом „Стафилококне инфекције гениталног тракта куја“. Крајем исте године декан Факултета ветеринарске медицине похвалио га је као најбољег дипломираног студента у школској 2015/2016. години, а 2017. године добио је Повељу Универзитета у Београду за најбољег студента генерације Факултета ветеринарске медицине који је дипломирао у школској 2015/2016. години.

Током основних студија био је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, Задужбине Драгољуба Маринковића, а током последње године студија и Фонда за младе таленте Републике Србије. Активно је учествовао у раду Центра за научноистраживачки рад студената Факултета ветеринарске медицине Универзитета у Београду, био је сарадник и дописник студентског часописа „Хирон“, као и активни члан и вишегодишњи председник Кинолошке секције Факултета ветеринарске медицине. Као студент објавио је два научна рада.

У оквиру пројекта *Tempus EduVet*, током последњег семестра студија провео је три месеца на Универзитету ветеринарске медицине у Бечу, где је обављао клиничку обуку на Универзитетској клиници за коње и мале животиње.

Након дипломирања обавио је приправнички стаж у Ветеринарском специјалистичком институту „Ниш“ у Нишу. Државни стручни испит положио је 2017. године и стекао лиценцу за обављање ветеринарске делатности. Од септембра 2017. године запослен је у Ветеринарском специјалистичком институту „Ниш“ у Нишу, на Одељењу за епизоотиологију, патологију и репродукцију, у оквиру Сектора за здравствену заштиту.

Докторске академске студије на Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду уписао је 2016. године. Положио је све испите предвиђене овим студијским програмом са просечном оценом 9,64 (девет и 64/100). Ужа научна област му је ветеринарска патологија.

Специјалистичке академске студије на Факултету ветеринарске медицине Универзитета у Београду завршио је 2019. године, успешном одбраном специјалистичког рада на Катедри за патологију под називом „Морфолошке карактеристике респираторних болести свиња у интензивном узгоју“. Ужу специјализацију из области ветеринарске патологије на истом факултету завршио је 2021. године.

Као први аутор објавио је један рад у међународном часопису са SCI листе, као и већи број радова саопштених на скуповима од националног значаја.

Говори, чита и пише енглески језик, а поседује и средњи ниво знања немачког језика.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани Илија Б. Јовановић

број уписа 2016/5001

Изјављујем

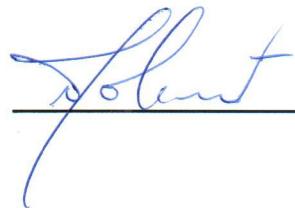
да је докторска дисертација под насловом

**„Морфолошке промене и молекуларна идентификација узрочника
респираторних инфекција свиња у различитим производним категоријама и
на линији клања“**

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 30.09.2026. године



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Илија Б. Јовановић

Број уписа 2016/5001

Студијски програм Докторске академске студије

Наслов рада „Морфолошке промене и молекуларна идентификација узрочника
респираторних инфекција свиња у различитим производним категоријама и на
линији клања“

Ментор др Ивана Вучићевић, ванредни професор
др Милош Петровић, доцент

Потписани Илија Б. Јовановић

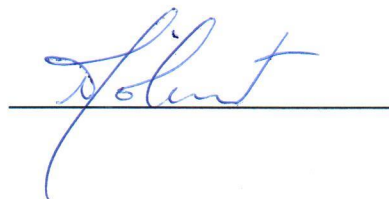
изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 30.09.2026. године



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Морфолошке промене и молекуларна идентификација узрочника респираторних инфекција свиња у различитим производним категоријама и на линији клања“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

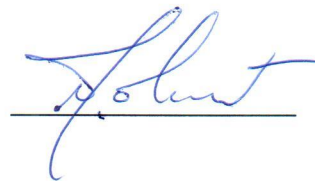
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прераде**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 30.09.2026. године



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.