

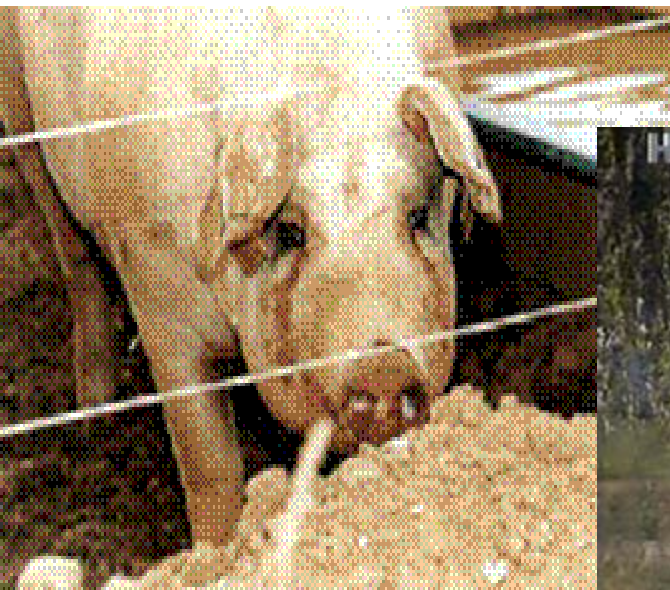
Univerza v Ljubljani
Veterinarska fakulteta

**Epizootiologija – specialni del:
Klasična prašičja kuga (KPK)**

Jože Grom

Učno gradivo

Ljubljana, 2010



Zgodovina bolezni

- Prvič so KPK dokazali leta 1833
- KPK endemičen v 19. in 20. stoletju
- Od leta 1989 izbruhi v 36 državah po celem svetu



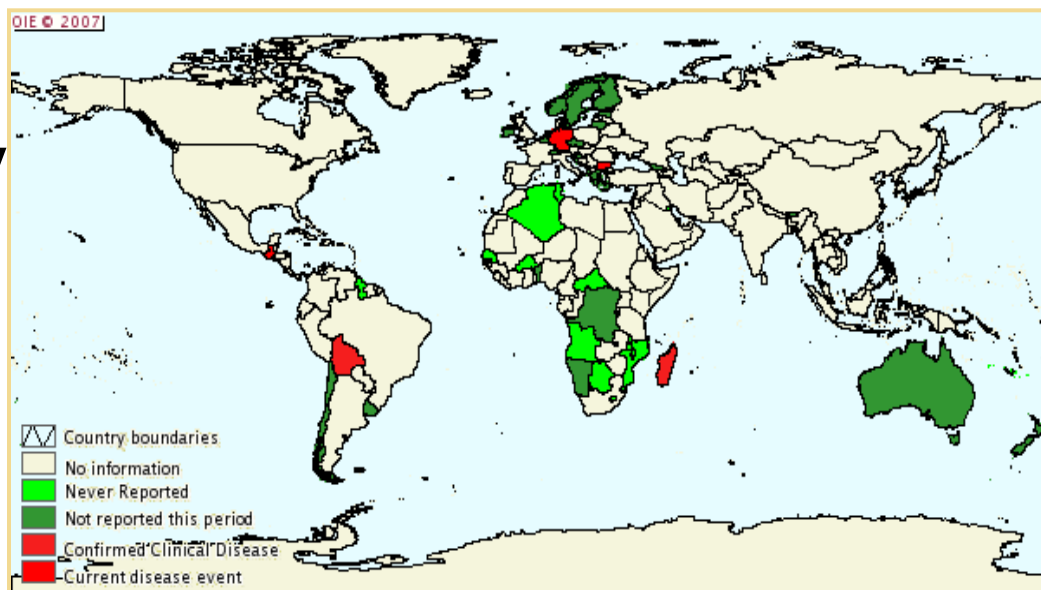
Ekonomski vplivi

- Vpliv na proizvodnjo
 - Visoka smrtnost, neplodnost in drugi učinki na zdravje
- Izgube pri izvozu in uvozu prašičev in proizvodov iz svinjine
- Kontrola
 - karantene
 - klanje živali
- 1997-1998: Nizozemska
 - Okuženih 400 čred prašičev (1,5 milijona živali)
 - 12 milijonov prašičev so evtanazirali
 - Direktne škode 2,2 milijarde evrov



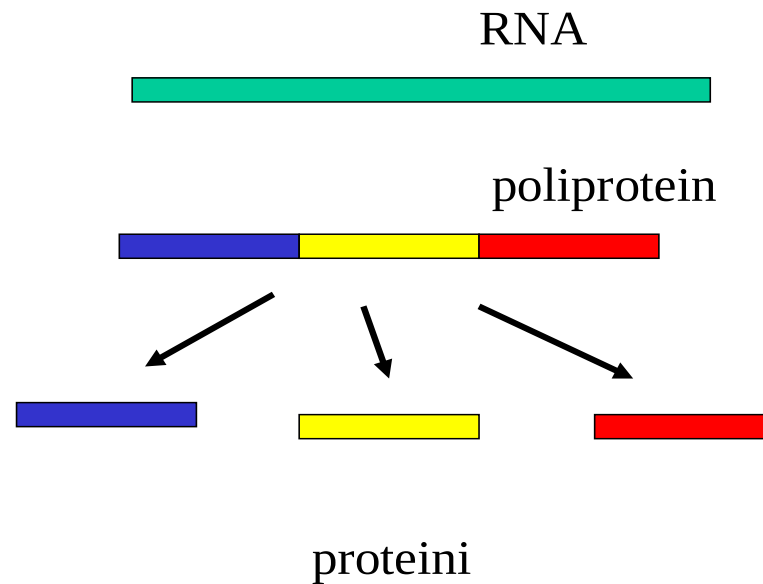
Geografska razširjenost KPK

- Azija, J. Amerika, Srednja Amerika
- Deli Afrike in Karibskih otokov
- Mehika
- KPK eradiciran v
 - ZDA
 - Kanadi
 - Avstraliji
 - Novi Zelandiji
 - V večini evropskih držav

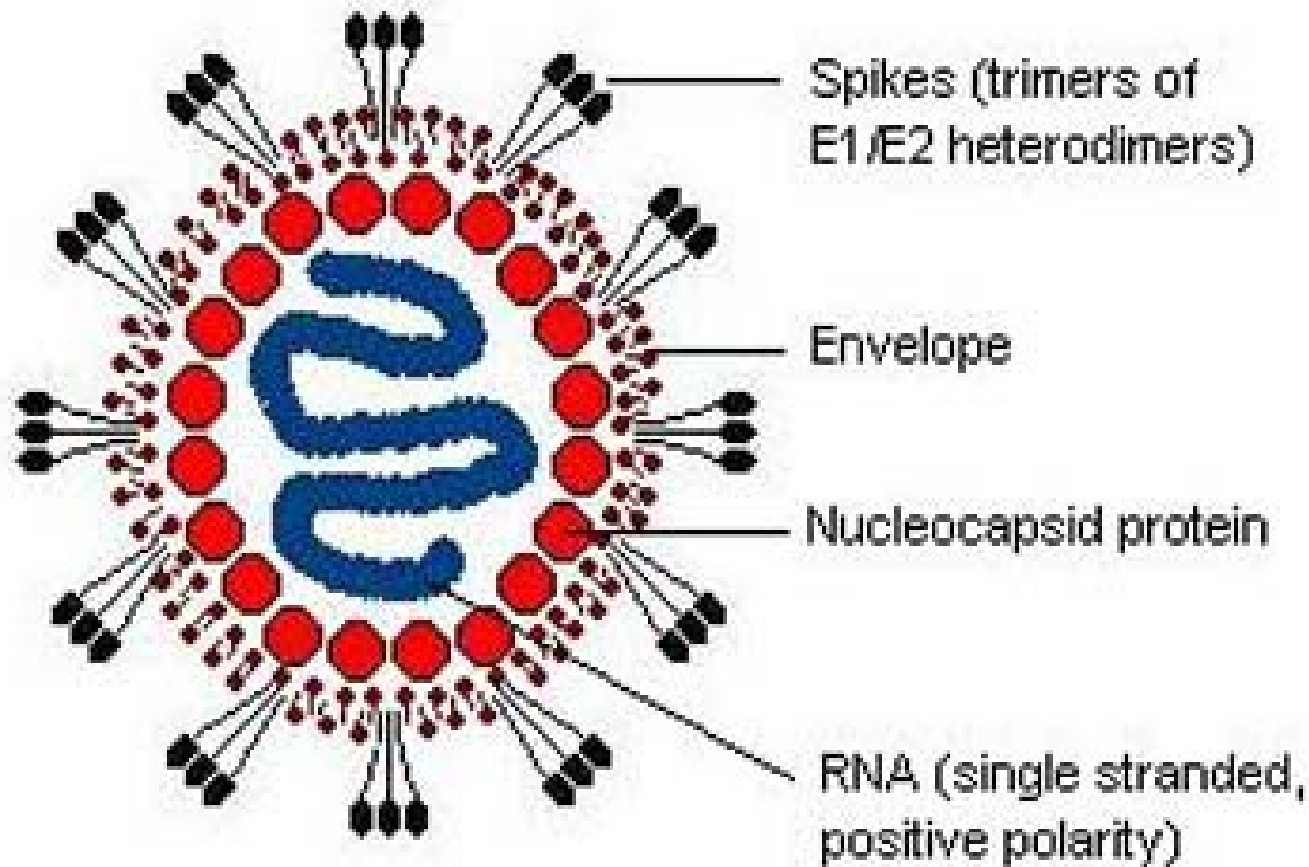


Pestivirusi

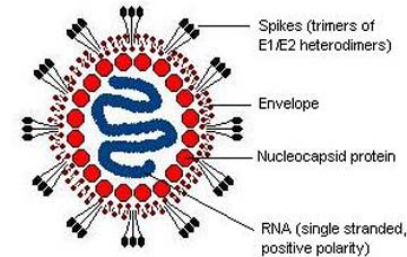
- virusi z ovojnico
- + polarna RNA
- Poliprotein



Struktura virusa KPK



Povzročitelj KPK



- Virus z RNA, uvrščen v družino Flaviviridae
- Okrogle oblike, velikost 40 do 60 nm
- Za virus KPK so dovzetni samo prašiči
- Virus je zelo odporen v zunanjem okolju:
 - na +4° C v svinjskem mesu preživi 3-6 mesecev,
 - v suhem svinjskem mesu 10 mesecev,
 - v zamrznjenem mesu (-18 ° C) do 4 leta



Obolevnost in smrtnost

- Pomembna sta starost in imunski status živali
 - Višja smrtnost pri mlajših živalih
- Obolevnost in smrtnost sta odvisni od virulence virusnega seva:
 - Pri akutni obliki bolezni
 - Visoka smrtnost (do 100%)
 - Pri subakutni obliki bolezni
 - Nižja stopnja obolevnosti in smrtnosti
 - Pri kronični obliki bolezni
 - Prizadetih malo živali – vedno smrtno
 - V nekaterih primerih poteka asimptomatsko

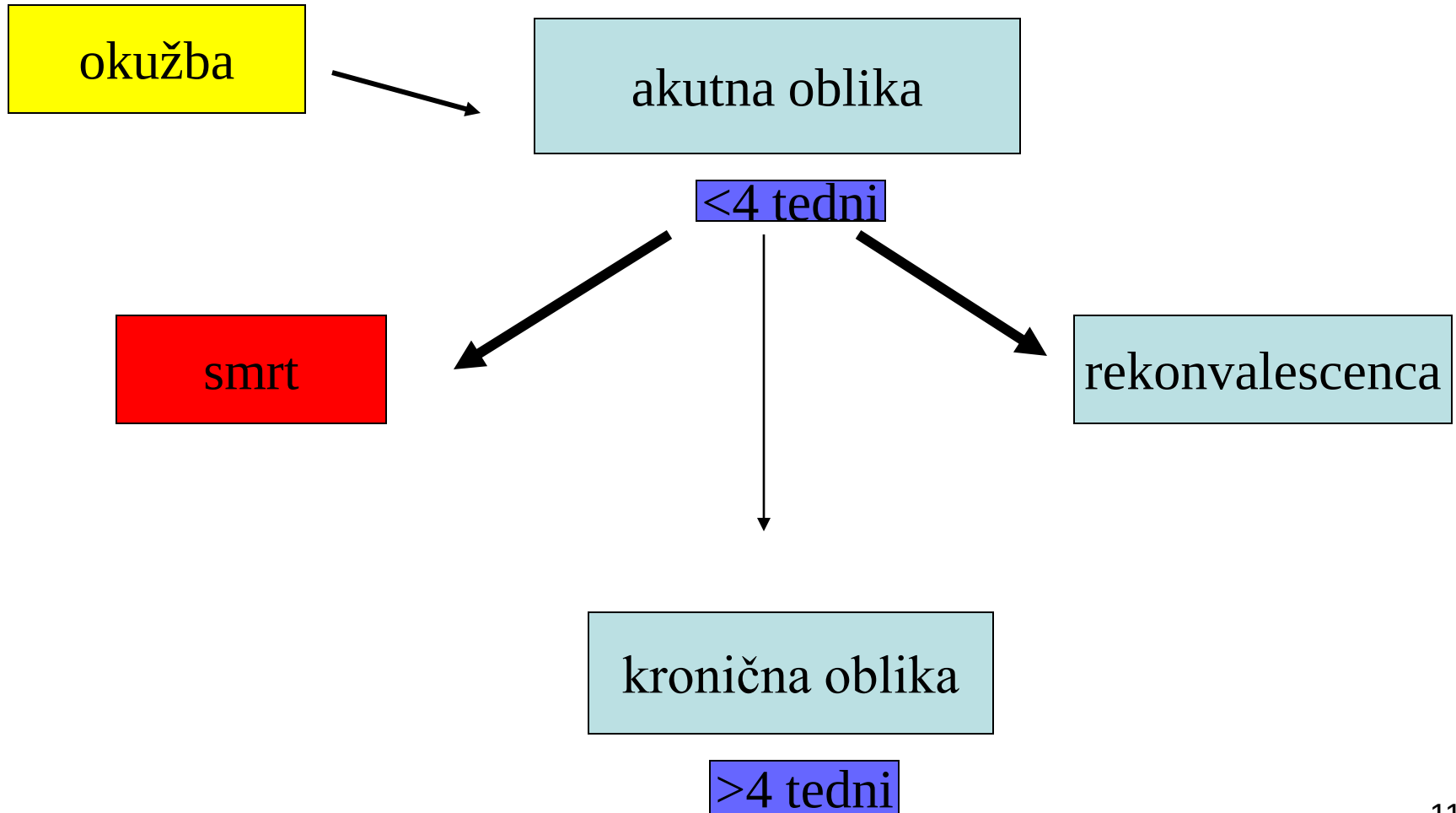
Prenos okužbe

- Direktni prenos - bolna žival je zelo kužna:
 - kri, slina, urin, feces
 - tkiva okuženega prašiča
- Indirektni prenos:
 - okužene pomije ali mesni izdelki
 - manj pogosto: aerosol, seme, vektorji
- Okuženi prašiči so edini rezervoar bolezni

Anamneza in klinična slika

- Klinični znaki
 - visoka temperatura
 - cianotične spremembe po koži in ušesih
- Anamnestični podatki
 - Hranjenje z neprekuhanimi ali premalo kuhanimi pomijami in / ali ostanki hrane, posebno mesnimi izdelki
 - Nabava in vnos novih živali
 - Nedavna potovanja v tujino
 - Prisotnost tujcev ali tujih delavcev
 - Prašiči ne reagirajo na zdravljenje (antibiotiki)

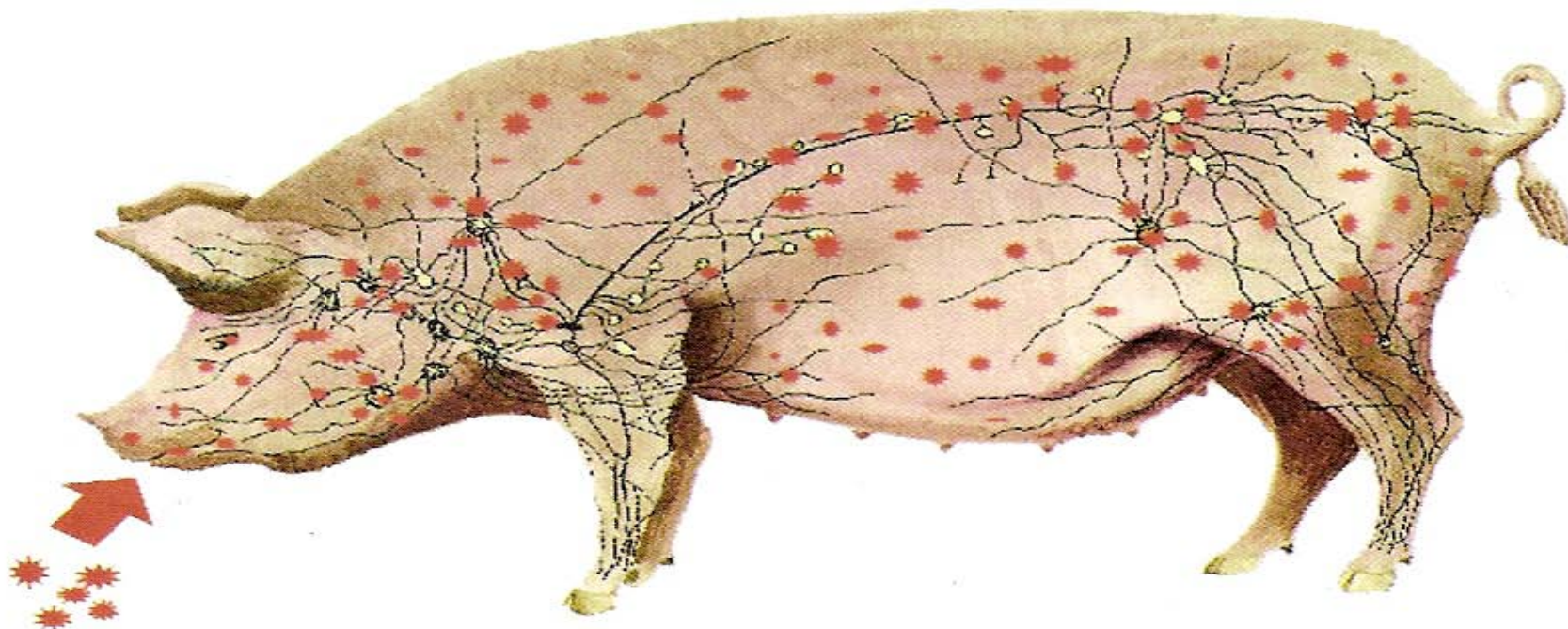
Potek bolezni



Prenos okužbe z bolnimi živalmi ali neprekuhanimi pomijami

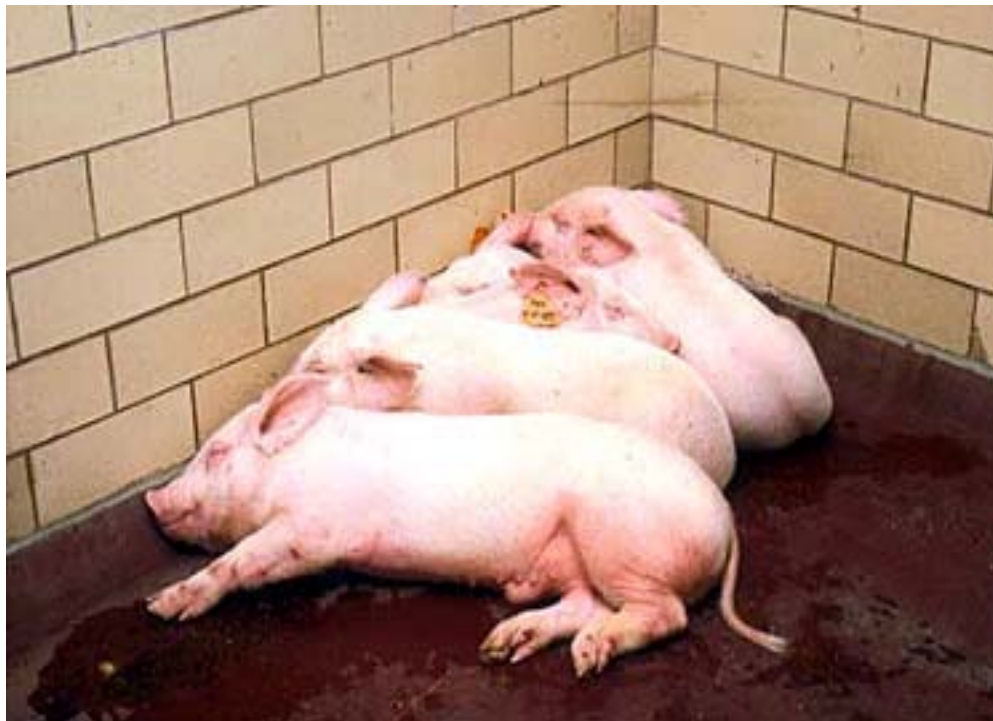


Vnos virusa preko ustne sluznice



Patogeneza KPK

Naravna okužba poteka oronazalno, inkubacijska doba 7 do 10 dni



Klinična slika KPK



Cianotične spremembe po uhljih



Pogin prašičev zaradi KPK



Pogin prašičev zaradi KPK - nadaljevanje

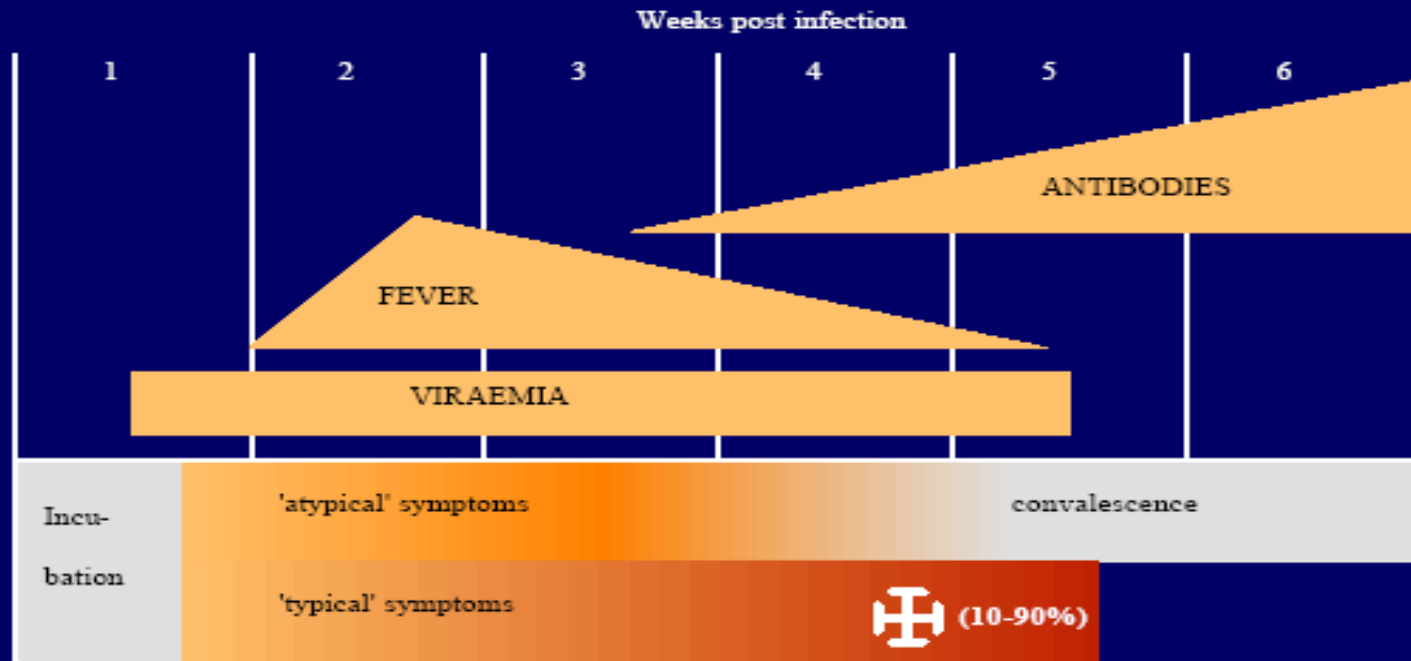


Akutni potek bolezni

- vročina ($39,5^{\circ}$ - 41° C), letargija, anoreksija
- krvavitve po koži in očesnih veznicah
- ob19stipacija, ki ji sledi diareja
- ataksija, pareza, krči
- Pri odstavljenih in pitancih najhitreje opazimo akutno obliko KPK

Akutni potek bolezni

Acute course of CSFV infection



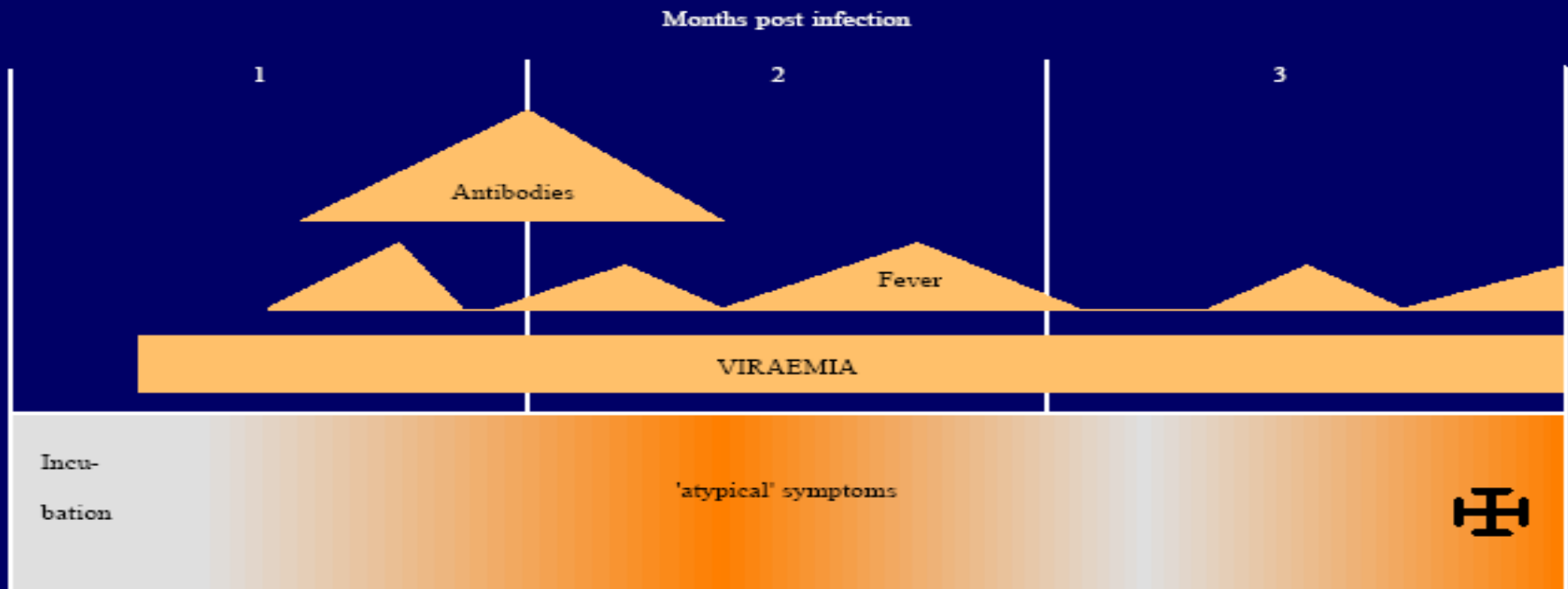
The incubation period lasts for approximately seven to ten days and is followed by a period of time when first clinical symptoms develop. Animals may show atypical signs of illness such as loss of appetite, fever, swollen lymphnodes and lethargy as well as “classical” symptoms of CSF, e.g. haemorrhages of the skin, conjunctivitis and/or neurological signs. Viraemia already starts during the incubation period and can last for several weeks post infection. Antibodies against CSFV can be detected from two to three weeks post infection onwards. Pigs suffering from the acute form of CSF either die or recover. The severity of the disease depends mainly on the animals’ age at the time of infection, its immunological reactivity as well as the infecting dose and virulence of the virus.

Kronični potek bolezni

- se pojavi, kadar prašiči niso zmožni dobrega imunskega odgovora
- začetni znaki so podobni akutni obliki, kasneje prevladajo netipični znaki n.pr. ponavljajoča temperatura, kronični enteritis, krvavitev po koži ni, živali lahko živijo 2-3 mesece, virus izločajo ves čas od pojava kliničnih znakov, občasno lahko dokažemo protitelesa

Kronični potek bolezni

Chronic course of CSFV infection



The chronic form of CSF occurs when pigs are not able to develop an effective immune response against CSFV. Antibodies can be detected in the serum at approximately one month post infection, but the production is not sufficient to neutralise the virus. Initial signs of infection resemble those of the acute form of CSF ("early acute reaction"), later predominantly non-specific signs can be observed, "typical" haemorrhages are often missing. Animals suffer from intermittent fever and chronic enteritis and also show growth retardation (period of partial recovery). They may survive two to three months before they eventually die (period of relapse and death). The chronic form of CSF is relatively rarely seen under field conditions, but of great importance for the epidemiology of the infection, since chronically infected animals constantly shed the virus from the onset of clinical symptoms until death.

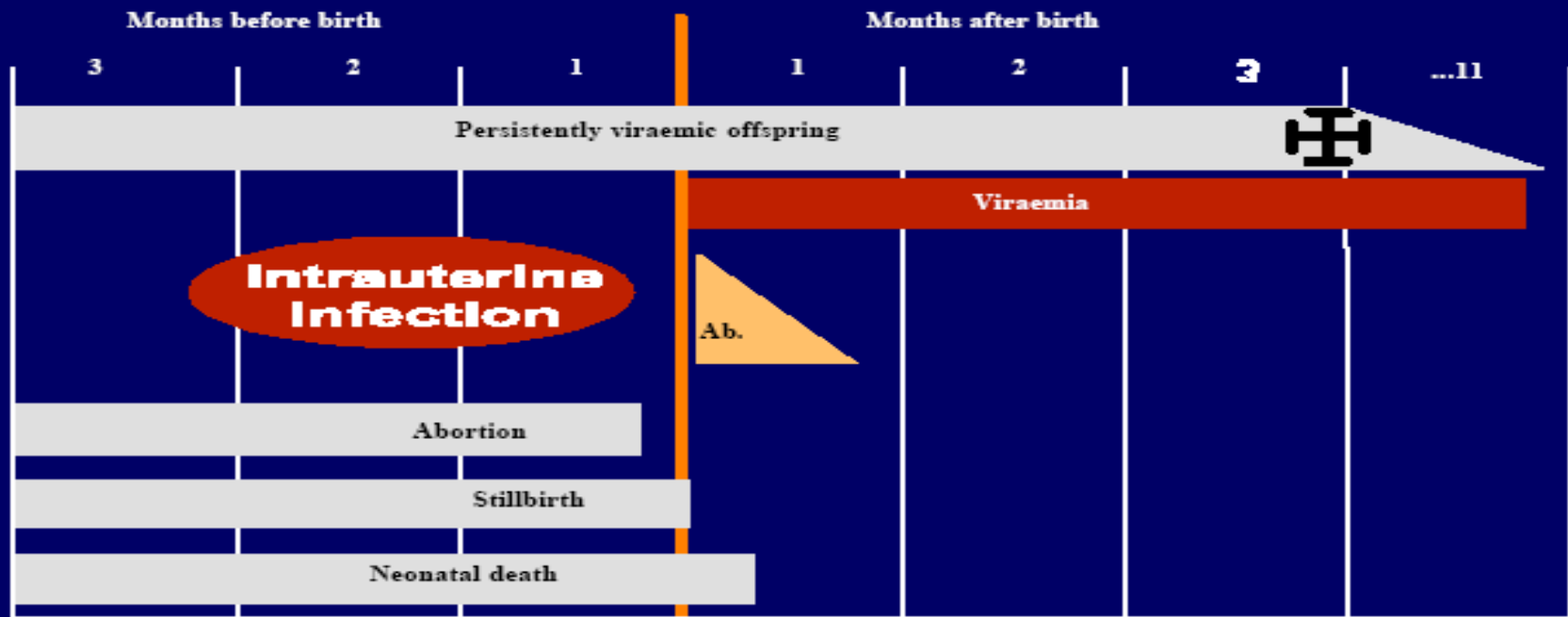
Kongenitalna okužba

Prenatalna oblika:

- virus KPK lahko prehaja placento pri breji svinji in okuži plod, okužba pri svinji poteka subklinično
- potek okužbe pri plodu je odvisen od starosti ploda in virulence virusa
- okužba v zgodnjem obdobju brejosti povzroči abortuse, fetalno smrt, mumifikacijo in malformacije

Kongenitalna okužba z virusom KPK

Congenital infection with CSFV



The CSF virus has the ability to cross the placental barrier and infect the foetuses. The infection in the sow is often subclinical. The outcome of transplacental infection is dependent on the stage of gestation and on the virulence of the virus involved. Infection during early pregnancy can lead to abortion, stillbirth, mummification, neonatal death or malformations. The fertility index in the diseased holding is therefore reduced.

Infection of sows at up to 90 days of pregnancy can result in the birth of persistently viraemic piglets, which may appear clinically "normal" at birth and may survive for several months before they die as a consequence of the infection.

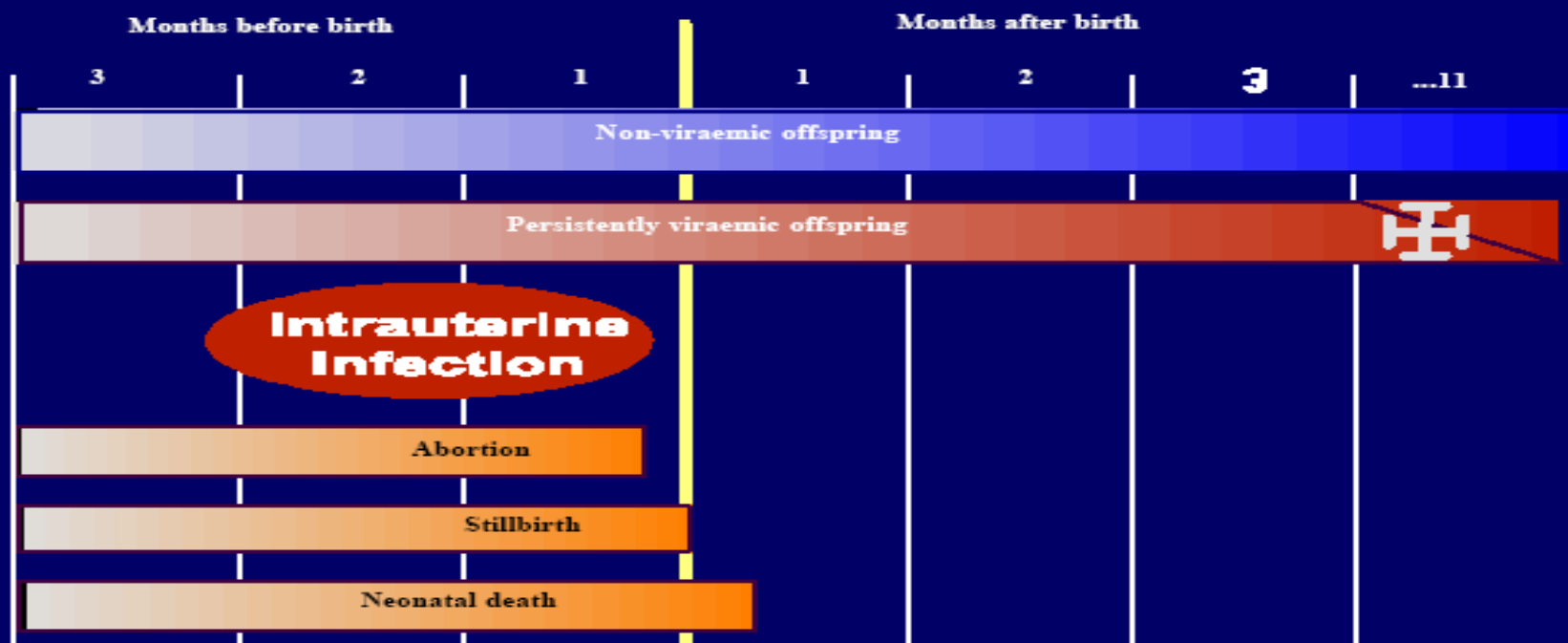
Kongenitalna okužba - nadaljevanje

Prenatalna oblika in pozni pojav bolezni:

- pri okužbi ploda, 25 mlajšega od 90 dni, pride do rojstva perzistentno okuženih prašičkov
- rodijo se navidez zdravi in preživijo nekaj mesecev
- slabo priraščajo, pojavlja se kongenitalni tremor
- te živali igrajo glavno vlogo pri širjenju in vzdrževanju okužbe v čredi, izločajo virus KPK do svoje smrti !

Kongenitalna okužba - nadaljevanje

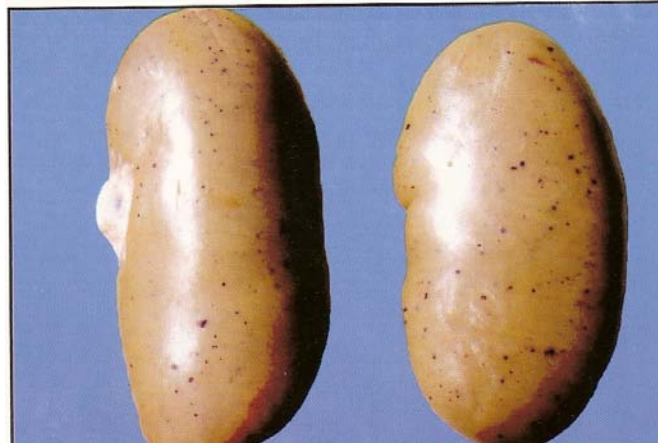
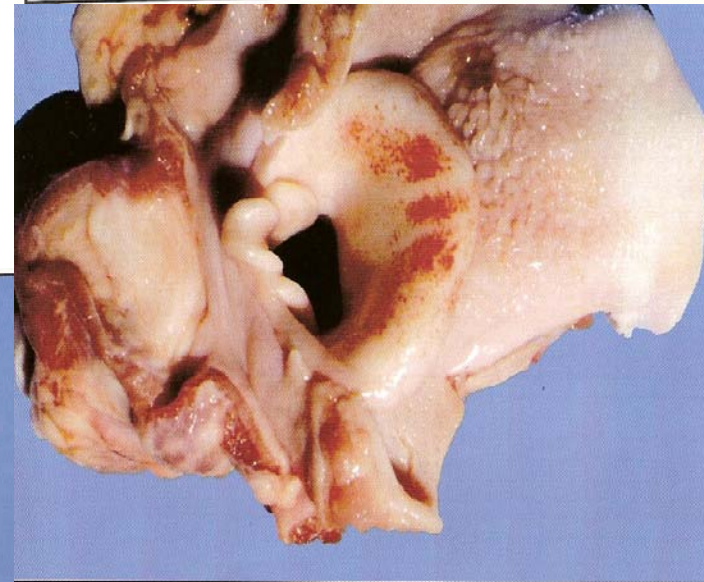
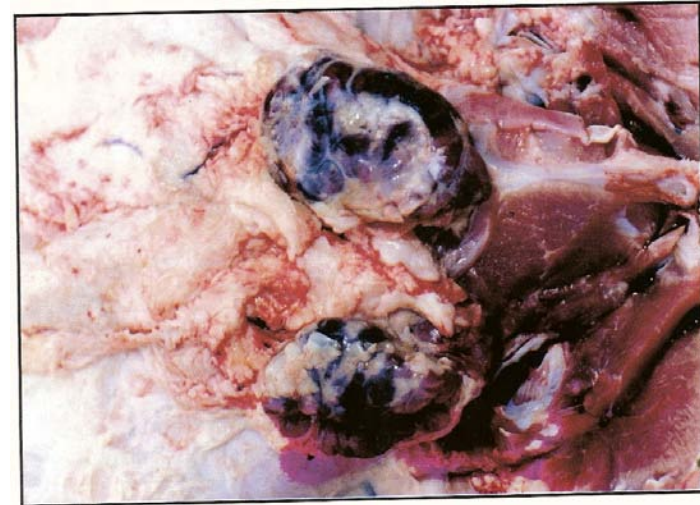
Congenital infection with CSFV



Time of intrauterine infection is the crucial factor. When the foetuses are not yet immunocompetent, they become immunotolerant against the virus and persistently viraemic. Only persistently viraemic foetuses show the late onset course of disease which is not necessarily clinically evident. Post-mortem findings are unspecific.

Patoanatomske spremembe pri KPK

- **Pri akutni okužbi**
 - Krvavitve po bezgavkah
 - Nekrotični fokusi po tonzilah
 - Drobne krvavitve
 - ledvica, larinks, traheja, črevesje, vranica, pljuča



Patoanatomske spremembe pri KPK

- Kronična okužba

- Nekrotični fokusi

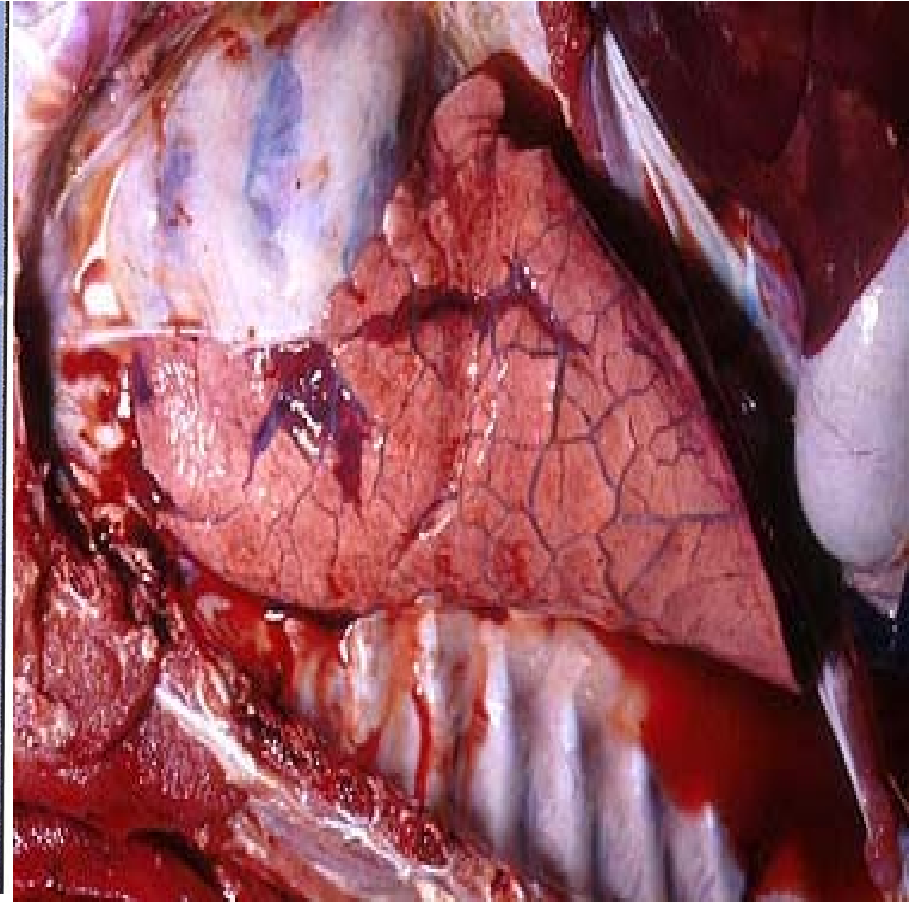
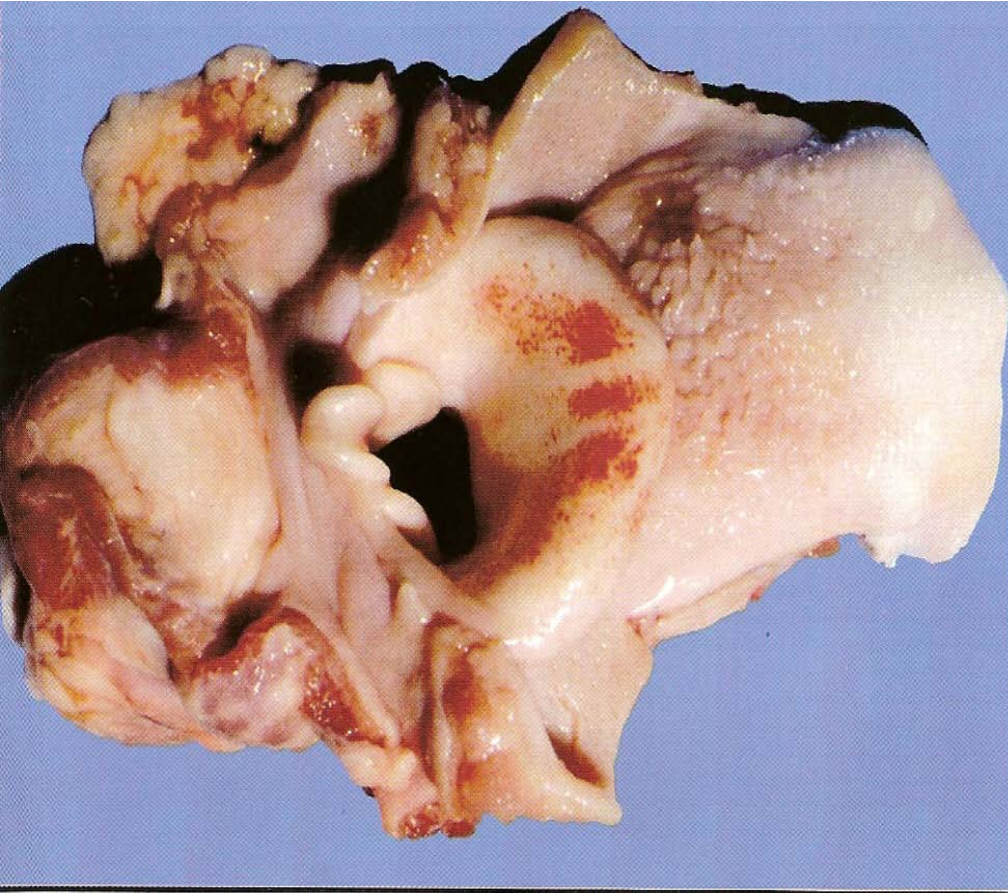
- Sluznica črevesja
(butoni – ulcerozne razjede)
 - Epiglotis
 - Larinks



- Kongenitalna okužba

- Hipoplazija cerebeluma, atrofija timusa,
deformacije glave in nog

Patoanatomske spremembe pri KPK – krvavitve po epiglotisu in pljučih



Patoanatomske spremembe pri KPK – infarkti v vranici



Patoanatomske spremembe pri KPK – krvavitve v ledvicah



Povečane in krvave bezgavke



Krvavitve na sluznici mehurja



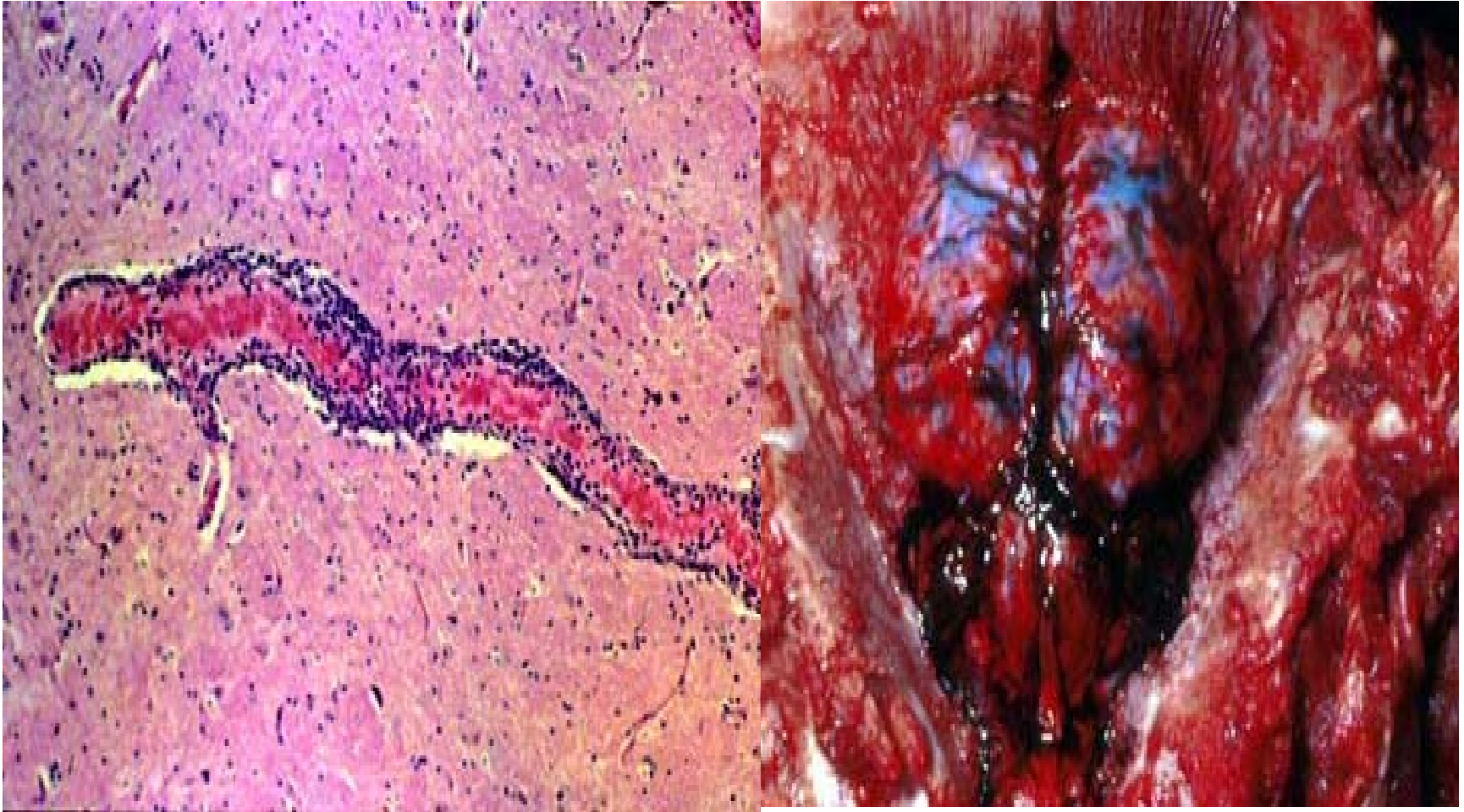
Spremembe v črevesju



Patoanatomske spremembe pri KPK – t.im-butoni v črevesju pri kronični KPK



Patoanatomske spremembe pri KPK – krvavitve v možganih



Diferencialna diagnostika

Diagnoze ni mogoče postaviti brez laboratorijskih preiskav, izključiti je potrebno:

- Afriško prašičjo kugo (APK)
- PRRS
- Prašičje cirkoviruse
- Salmonelozo
- Rdečico
- Leptospirozo
- Bolezen Aujeszkega

Diagnostika klasične prašičje kuge

Epizootiološki podatki:

- Direktni ali indirektni kontakt z okuženimi živalmi
- Nakup živali s področja ki je okuženo
- Hranjenje živali z neprekuhanimi pomijami
- Kontakt z divjimi prašiči
- Vstop neznanih oseb v objekte, kjer so prašiči

Klinični pregled živali:

- Visoka temperatura in večje število obolelih in poginulih živali
- Visoka temperatura, zdravljenje z antibiotiki je bilo neuspešno
- Kravitve po koži
- Živčni znaki

Pozitiven obdukcijski izvid



Pozitivne virološke preiskave



Klasična prašičja kuga

Laboratorijska diagnostika KPK

Vzorci za laboratorijsko diagnostiko KPK:

Pri živi živali:

- polna kri (EDTA)
- serum

Post-mortem:

- tonzile
- bezgavke: faringealne, mezenterialne, maksilarne
- vranica
- ledvica
- ileum

Laboratorijska diagnostika KPK – dokazovanje virusa oz. virusnega antigena

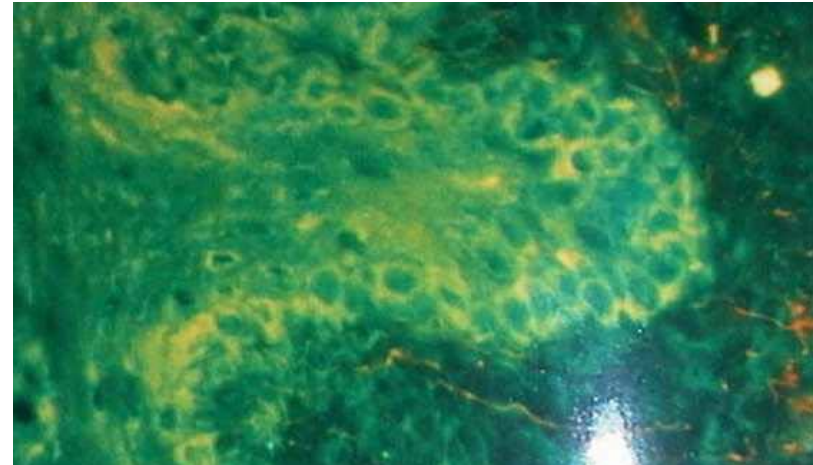
- kriostatske rezine organov:
IF, IPT
- dokazovanje antigena v levkocitih ali
suspenziji organov:
antigenski test ELISA
- Izolacija virusa na celični kulturi PK-15
- Dokazovanje virusne nukleinske kisline v
serumu, levkocitih, suspenziji organov:
RT-PCR, PCR v realnem času

Laboratorijska diagnostika KPK

Dokazovanje virusa in
virusnega antigena:

kriostatske rezine
organov:

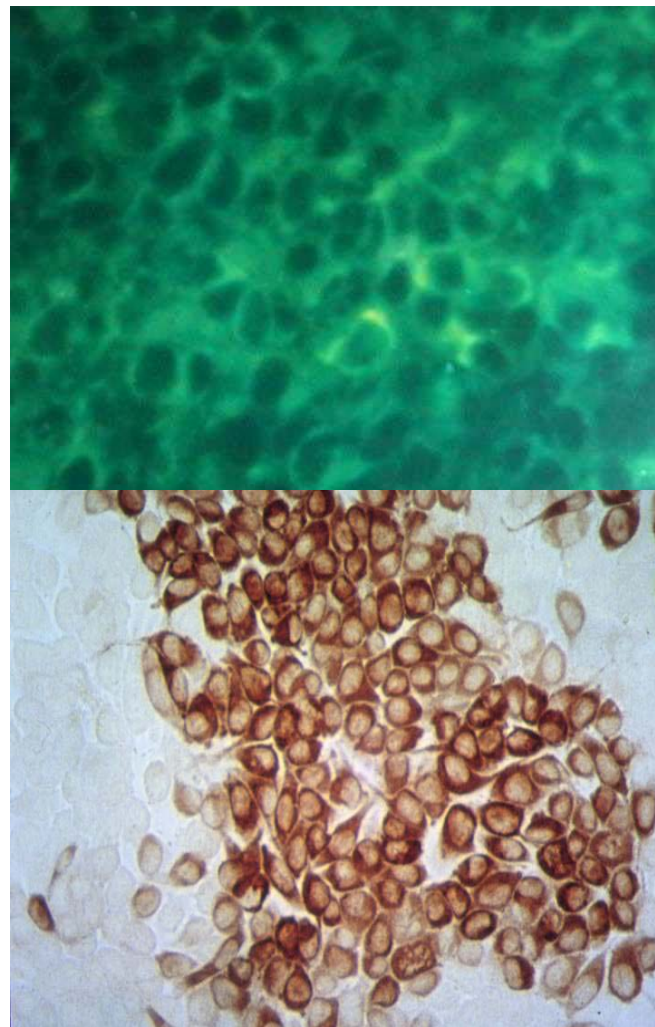
- tonzile
 - ileuma
- z direktno
imunofluorescenco
ali
imunoperoksidaznim
testom



Laboratorijska diagnostika KPK

Izolacija virusa KPK
na celicah PK-15

Dokazovanje virusa
z imunofluorescenco
ali
imunoperoksidaznim
testom



Laboratorijska diagnostika KPK

Diferencialna diagnostika pestivirusov s specifičnimi monoklonalnimi protitelesi (Mab)

poliklonska protitelesa	Mab specifični za	Mab specifični za	Mab specifični Za	interpretacija
	Sevi KPK	vakcinalni sevi KPK	sevi BVD/ Bord.b	
+	+	-	-	divji sev KPK
+	+	+	-	vakc.sev KPK
+	-	-	+	BVD/Bord.b.
+	-	-	-	drugi pestivirusi

Laboratorijska diagnostika KPK

antigenijski test ELISA:

dokazivanje antigena iz :

levkocitov

seruma

suspencije organov

Laboratorijska diagnostika KPK

Dokazovanje

virusne nukleinske kisline:

z verižno

polimerazno reakcijo

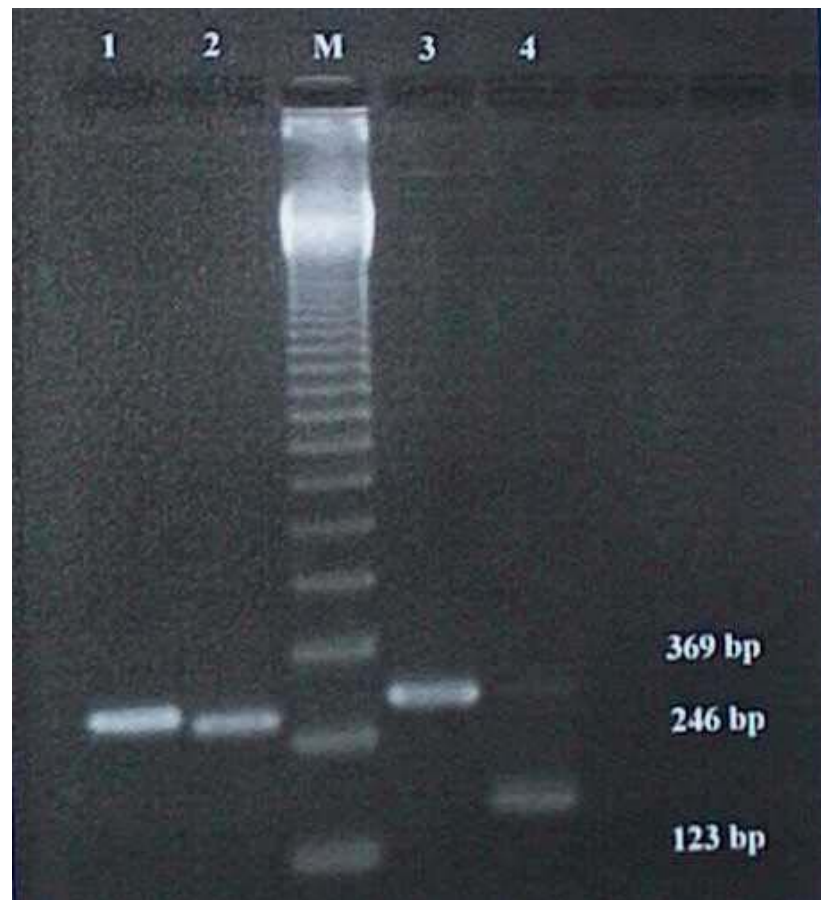
RT-PCR,

produkt RT-PCR lahko

uporabimo za pripravo

sekvenčne reakcije in

ustrezno analizo sekvence



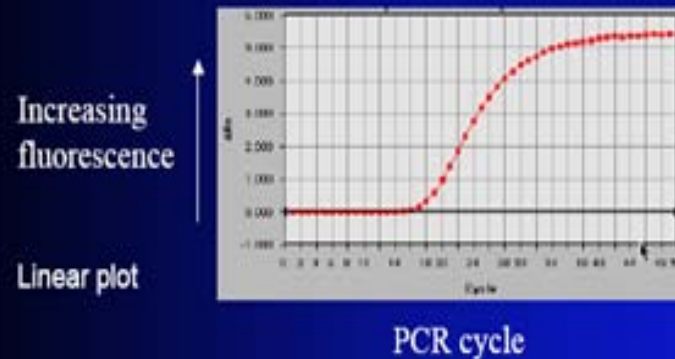
Laboratorijska diagnostika KPK

Dokazovanje
virusne nukleinske
kisline:

RT-PCR v realnem
času

Real-time PCR is kinetic

- Detection of “amplification-associated fluorescence” at each cycle during PCR
- No gel-based analysis at the end of the PCR reaction
- Computer based analysis of the cycle-fluorescence time course



Nigel Walker, NIEHS www1.niehs.nih.gov

Laboratorijska diagnostika KPK

serološka diagnostika :

dokazovanje nevtralizacijskih protiteles:

- nevtralizacijski imunofluorecenčni test NIF
- nevtralizacijski peroksidazni test NPLA
titer SN protiteles $> 1:10$

dokazovanje celokupnih protiteles:

- blokirajoči test ELISA
- kompeticijski test ELISA

Izbruh KPK je potrjen,

ko smo dokazali virus, virusni antigen oz.

virusni genom z najmanj 2 metodama:

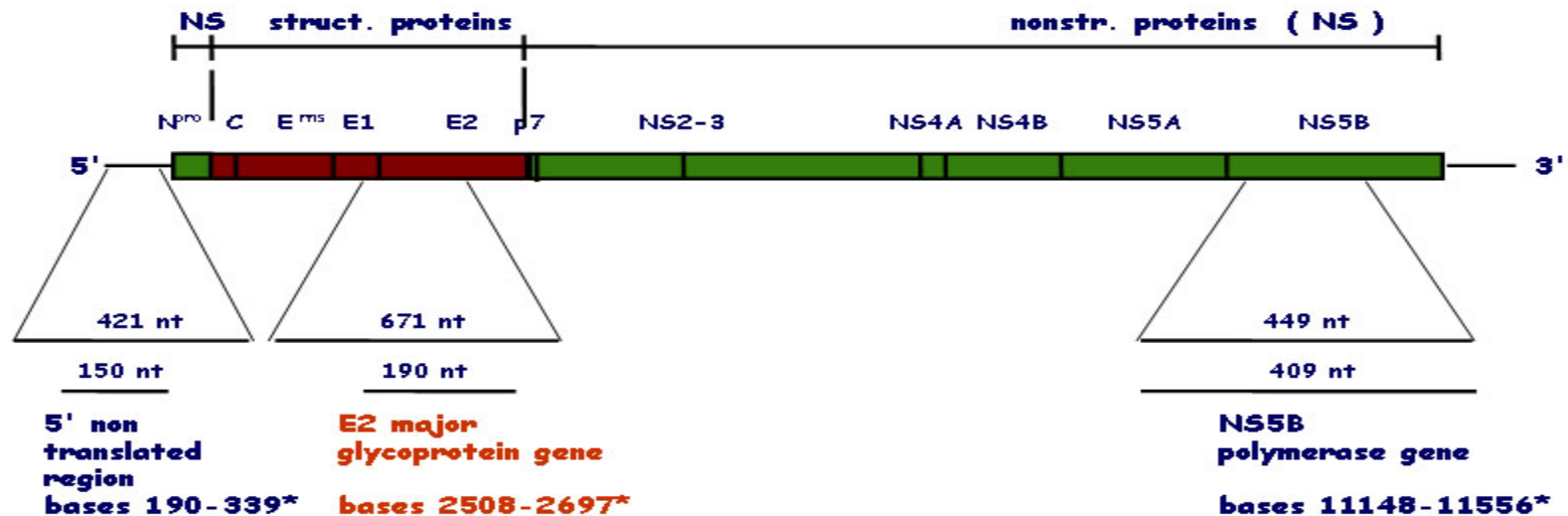
- Izolacija virusa na PK-15
- Antigenski test ELISA
- RT-PCR, RT-PCR v realnem času

Sekvenciranje

- Vsak nov izolat KPK mora biti sekvenciran
- Sekvenca izolata je potrebno poslati v referenčni laboratorij za KPK

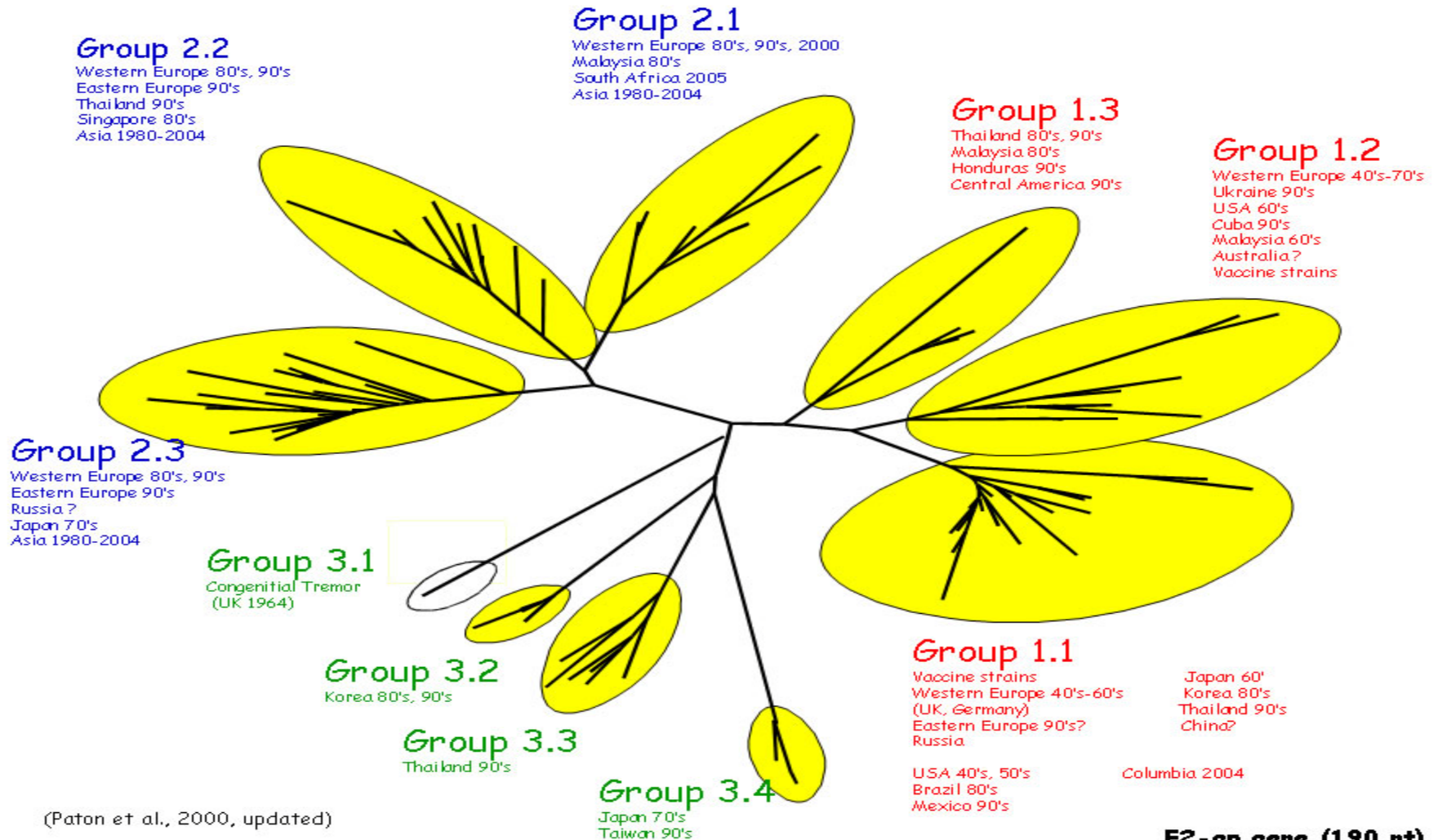
Genom virusa KPK – tarčni odseki za sekvenciranje

CSFV Genome: Target Regions



* related to the Alfort/Tübingen sequence

Filogenetsko drevo virusnih sevov KPK na podlagi gena E2



E2-gp gene (190 nt)

Karantena

V primeru suma ali potrjene diagnoze

- Zapora vseh rej v premeru 3 km (**okuženo področje**)
- Zapora vseh rej v premeru 10 km (**ogroženo področje**)



Določitev okuženega in ogroženega kroga v primeru KPK na hrvaško-slovenski meji leta 2007



Primer ukrepov v okuženem področju

Uvedeni ukrepi – DSNB - 8. 3. 2007

OKUŽENO OBMOČJE – 3 km

1. Identifikacija in popis gospodarstev, ki redijo prašiče. OU VURS izvede skupen popis in klinični pregled vključno s termometriranjem prašičev v vseh rejah na določenem 3 km območju, ki ga izvedeta uradni veterinar VURS in veterinar koncesionar. Kot osnovo za popis gospodarstev uporabijo spisek prašičerejcev, ki ga je pripravil DSNB. Popis gospodarstev in klinični pregled morata biti zaključena najkasneje do vključno 15.03.2007.
2. Prepove premike in prevoz prašičev na določenem 3 km območju.
3. Odredi čiščenje in dezinfekcijo prevoznih sredstev in opreme, ki se je uporabljala za prevoz prašičev, drugih živali in stvari (krme, trupel, gnoj, gnojevka).
4. Rejec mora prijaviti vsak pogin prašiča uradnemu veterinarju.
5. Prepoved prometa s semenom, jajčnimi celicami in zarodki znotraj okuženega območja.
6. Izvedba bioloških varnostnih ukrepov na vseh popisanih gospodarstvih ureditev ustreznih higienskih pogojev oz. bioloških varnostnih ukrepov na gospodarstvih, posebej glede ukrepov za osebe, ki zapuščajo in prihajajo na gospodarstvo – namestitvev razkuževalnih barier za prehod oseb na vsakem gospodarstvu, kjer regijo prašiče, kar pomeni postavitvev dezinfekcijskih barier na vseh vhodih in izhodih na gospodarstvo ali objekt.

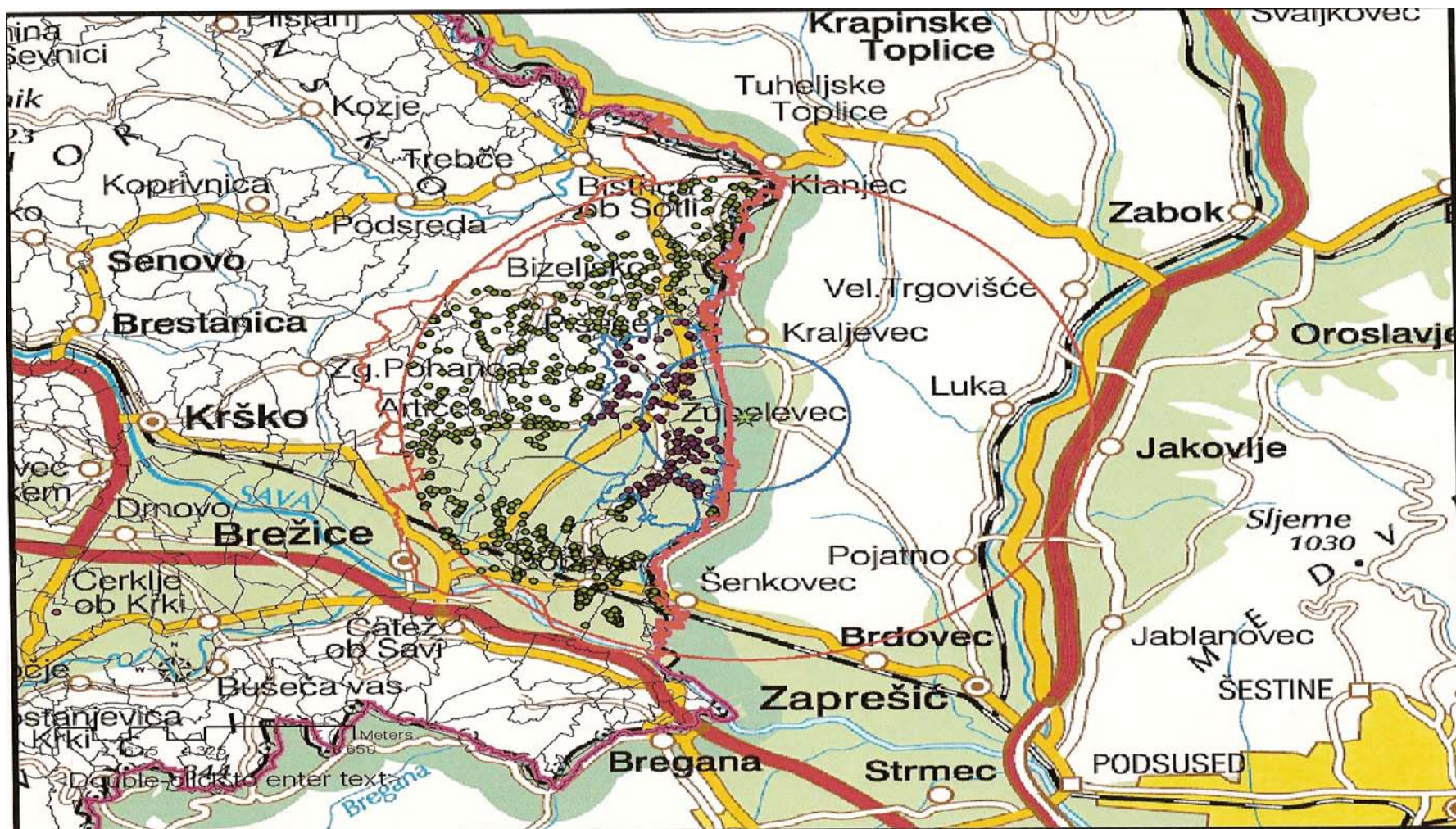
Primer ukrepov v ogroženem področju

Uvedeni ukrepi – DSNB - 8. 3. 2007

OGROŽENO OBMOČJE – 10 km

1. Identifikacija in popis gospodarstev, ki redijo prašiče. Kot osnovo za popis gospodarstev uporabijo spisek prašičerejcev, ki ga je pripravil DSNB. Popis gospodarstev in klinični pregled morata biti zaključena najkasneje do vključno 15.03.2007.
2. Prepove premike in prevoz prašičev na določenem 10 km območju.
3. Odredi čiščenje in dezinfekcijo prevoznih sredstev in opreme, ki se je uporabljala za prevoz prašičev, drugih živali in stvari (krme, trupel, gnoj, gnojevka).
4. Rejec mora prijaviti vsak pogin prašiča uradnemu veterinarju.
5. Prepoved prometa s semenom, jajčnimi celicami in zarodki znotraj okuženega območja.
6. Izvedba bioloških varnostnih ukrepov na vseh popisanih gospodarstvih ureditev ustreznih higienskih pogojev oz. bioloških varnostnih ukrepov na gospodarstvih, posebej glede ukrepov za osebe, ki zapuščajo in prihajajo na gospodarstvo – namestitvev razkuževalnih barier za prehod oseb na vsakem gospodarstvu, kjer regijo prašiče, kar pomeni postavitev dezinfekcijskih barier na vhodih in izhodih na gospodarstvo ali objekt.

Reje iz okuženega kroga označene z vijolično barvo, reje iz ogroženega kroga označene z zeleno barvo



Okuženo področje - podrobno



OKUŽENO OBMOČJE

- 8 naselij v občini Brežice
- 112 gospodarstev s prašiči
- 2013 prašičev

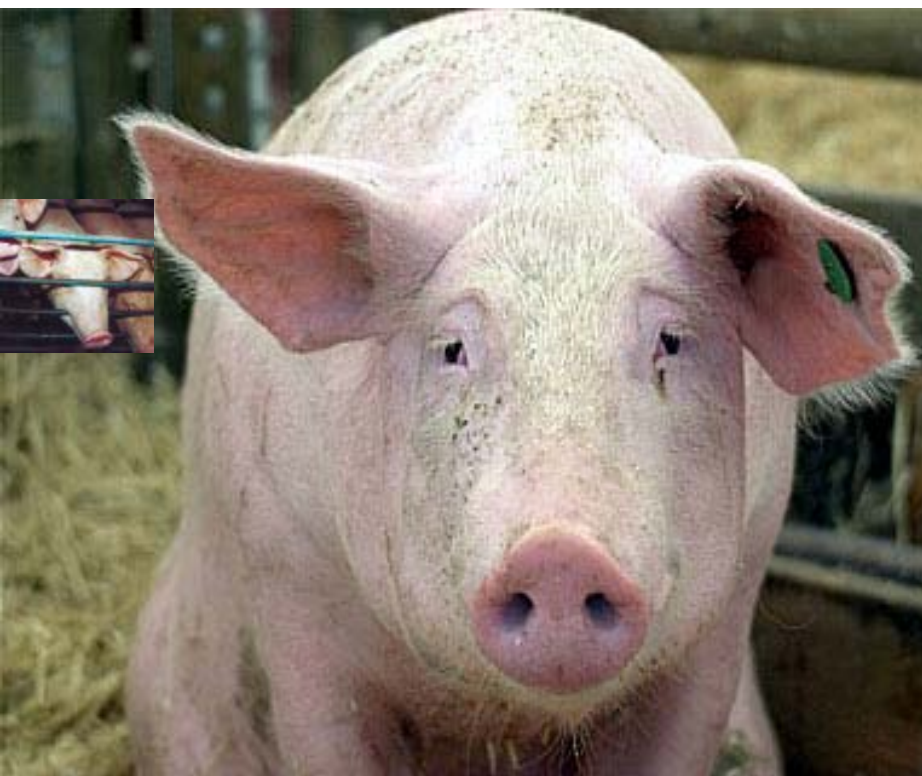
Ogroženo področje - podrobno



OGROŽENO OBMOČJE

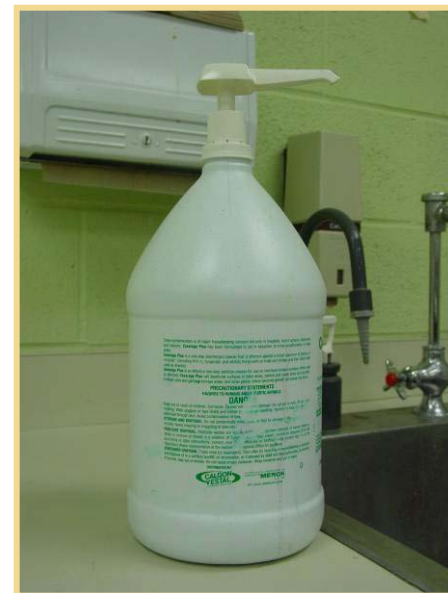
- 58 naselij v občini Brežice in 1 naselje v občini Bistrica ob Sotli
- 553 gospodarstev s prašiči
- 5.330 prašičev

Ustrezno obveščanje prebivalstva



Nadzor bolezni

- Razkužila
 - Natrijev hipoklorit
 - Vircon S
- Virus je občutljiv za:
 - sušenje
 - ultravijolično svetlobo
 - pH nižji kot 3 ali višji od 11
- Virus uničijo visoke temperature
 - Kuhanje pri 66° C / 30 minut; 71° C / 1 minuto



Dezinfekcija okuženega področja



Dezinfekcija okuženega objekta



Kontrola transporta živali



Preventivni ukrepi

- Hranjenje s pomijami ali mesnimi izdelki v EU ni dovoljeno
- Omejiti je potrebno vstop obiskovalcev na farmah, posebno obiskovalcev, ki so bili v tujini v zadnjih 5 dnevih
- Dosledno izvajanje biovarnosti
 - Čisti razkuženi škornji
 - Čiste obleke ali kombinezoni

Preventivni ukrepi - nadaljevanje

- Nadzor živali
 - Dnevni pregled živali
 - Opazovanje bolnih živali
- Čiščenje in razkuževanje
 - Vozil
 - Opreme
 - Škornjev in oblek

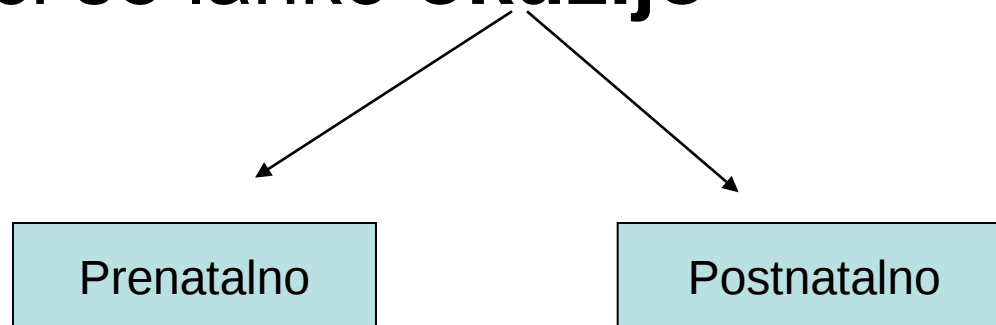


Klasična prašičja kuga pri divjih prašičih



Okužba divjih prašičev z virusom KPK

- Malo je študij, ki bi proučevale potek KPK pri divjih prašičih
- Okužba z virusom KPK lahko poteka na dva načina, odvisno od časa okužbe
- Divji prašiči se lahko **okužijo**



Potek bolezni pri divjih prašičih

Prenatalna oblika:

- virus KPK lahko prehaja placento pri breji svinji in okuži plod, okužba pri svinji poteka subklinično
- potek okužbe pri plodu je odvisen od starosti ploda in virulence virusa
- okužba v zgodnjem obdobju brejosti povzroči abortuse, fetalno smrt, mumifikacijo in malformacije

Potek bolezni pri divjih prašičih

Prenatalna oblika in pozni pojav bolezni:

- pri okužbi ploda, starejšega od 90 dni pride do rojstva perzistentno okuženih prašičkov
- rodijo se navidez zdravi in preživijo do 39 dni
- slabo priraščajo, pojavlja se kongenitalni tremor
- te živali igrajo glavno vlogo pri širjenju in vzdrževanju okužbe v čredi, saj izločajo virus KPK do svoje smrti !
- Pri divjih prašičih so prenatalno obliko dokazali eksperimentalno, zaenkrat je v naravi niso dokazali

Postnatalne okužbe pri divjih prašičih

- Pri divjih prašičih bolezen najpogosteje poteka v akutni obliki
- Ni podatkov o kronični obliki bolezni, kar ne pomeni, da tega v naravi ni

Patogeneza KPK pri divjih prašičih

- Virus pod naravnimi pogoji vstopi oronazalno
- Pride do okužbe tonzil (7 ur po ekspoziciji)
- Iz tonzil se virus prenese po limfi v bezgavke, kjer se razmnoži
- Po replikaciji v regionalnih bezgavkah pride do viremije in razširitve virusa po celem telesu
- Visoke titre virusa najdemo v vranici, kostnem mozgu in limfatičnem tkivu

Epizootiologija KPK pri divjih prašičih

- V deželah, ki so proste virusa KPK, lahko pride do okužb divjih prašičev le z odvrženo hrano na počivališčih ali smetiščih. Hrano odvržejo kmetje, lovci ali turisti
- V državah, kjer je prisotna KPK pri domačih prašičih, se lahko divji prašiči okužijo posredno, ko pridejo v stik z okuženimi kadavri ali gnojnico

Epizootiologija KPK pri divjih prašičih - nadaljevanje

- Ko je okužba vnesena v populacijo divjih prašičev, se lahko širi po metapopulaciji z direktnim kontaktom ali s kontaktom z izločki in trupli. Perzistentno okuženi pujski lahko prispevajo h kroženju virusa med populacijo divjih prašičev
- Okužba se lahko prenese direktno, še bolj pogosto pa indirektno na domače prašiče (ilegalno hranjenje s pomijami).

Epizootiologija KPK pri divjih prašičih - nadaljevanje

- Po vnosu virusa KPK med divje prašiče najdemo poginule prašiče, drugi pa razvijejo protitelesa in preživijo
- Ko bolezen doseže vrh, lahko sama ugasne, ker se je čreda živali imunizirala in razredčila.
- V zadnjem času opažamo, da bolezen ne ugasne ampak, postane endemična.
- Vzrok za to naj bi bila nizka virulenca virusa in povečano število in gostota živali

KPK pri divjih prašičih v Evropi v letu 2007

- Nemčija, Belgija, Luksemburg, Francija, Slovaška so imele endemično KPK pri divjih prašičih, ki jo sedaj eradikirajo s peroralno vakcinacijo divjih prašičev
- Endemično okužena področja divjih prašičev s virusom KPK so še:
Madžarska, Hrvaška, Romunija in Bolgarija

Hvala za vašu pozornost

