



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«Διερεύνηση των επιπτώσεων του εμβολιασμού των εγκύων συών  
κατά του Αναπνευστικού και Αναπαραγωγικού Συνδρόμου των  
Χοίρων (PRRS) στο αναπνευστικό σύστημα νεογέννητων  
χοιριδίων»**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Ι. ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ**

**Κτηνίατρος Π.Θ.**

**ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2022**

*Στους γονείς μου*

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Διερεύνηση των επιπτώσεων του εμβολιασμού των εγκύων συών κατά του  
αναπνευστικού και αναπαραγωγικού συνδρόμου των χοίρων (PRRS) στο  
αναπνευστικό σύστημα νεογέννητων χοιριδίων**

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ Ι. ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ**

Κτηνίατρος Π.Θ.

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

που εκπονήθηκε στην Παθολογική Κλινική του Τμήματος Κτηνιατρικής της Σχολής  
Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

(απόφαση της συνεδρίασης της Γ.Σ.Ε.Σ. του Τμήματος αριθμ. 31/20-02-2019)

Β. Παπασίρος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Επιβλέπων

Γ. Χριστοδουλόπουλος, Καθηγητής, Μέλος

Ε. Τζήκα, Καθηγήτρια, Μέλος

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Β. Παπασιός, Αναπληρωτής Καθηγητής

Γ. Χριστοδουλόπουλος, Καθηγητής

Ε. Τζήκα, Καθηγήτρια

Ν. Παπαιωάννου, Καθηγητής

Λ. Αθανασίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Δ. Ψάλλα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Δ. Γκουγκουλής, Επίκουρος Καθηγητής

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΩΝ.....</b>	<b>9</b>
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....</b>	<b>11</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>15</b>
<b>Μέρος Α.....</b>	<b>23</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ .....</b>	<b>23</b>
1. ΙΣΤΟΡΙΚΟ .....	24
2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ .....	25
2.1. <i>Ιός του PRRS (PRRSV).....</i>	<i>25</i>
2.2. <i>Γονιδίωμα του PRRSV .....</i>	<i>26</i>
2.3. <i>Γενετική παραλλακτικότητα των στελεχών του PRRSV .....</i>	<i>28</i>
2.4. <i>Ανθεκτικότητα PRRSV.....</i>	<i>31</i>
3. ΕΠΙΖΩΟΤΙΟΛΟΓΙΑ .....	32
3.1. <i>Γεωγραφική εξάπλωση του PRRSV .....</i>	<i>32</i>
3.2. <i>Μετάδοση .....</i>	<i>33</i>
3.3. <i>Μετάδοση του ιού εντός της εκτροφής και από εκτροφή σε εκτροφή .....</i>	<i>34</i>
4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ .....	35
4.1. <i>Μηχανισμός παθογένειας .....</i>	<i>35</i>
4.2. <i>Εμμένουσα μόλυνση .....</i>	<i>37</i>
4.3. <i>Μηχανισμοί παθογένειας του ιού.....</i>	<i>37</i>
5. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ .....	39
5.1. <i>Έμφυτη ανοσία .....</i>	<i>39</i>
5.2. <i>Χυμική ανοσία.....</i>	<i>40</i>
5.3. <i>Κυτταρική ανοσία.....</i>	<i>41</i>
6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	43
6.1. <i>Κλινικές μορφές.....</i>	<i>43</i>
6.2. <i>Κλινικά συμπτώματα .....</i>	<i>44</i>
7. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ.....	47
7.1. <i>Έμβρυα.....</i>	<i>47</i>

7.2. Νεογέννητα χοιρίδια.....	47
7.3. Απογαλακτισμένα χοιρίδια.....	48
7.4. Αναπτυσσόμενοι/παχυνόμενοι χοίροι.....	48
7.5. Σύες.....	49
7.6. Κάπροι.....	49
8. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ - ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ.....	49
8.1. Βακτηριακής αιτιολογίας.....	49
8.2. Ιογενούς αιτιολογίας.....	50
9. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ.....	50
10. ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ.....	51
10.1. Ορολογικές δοκιμές.....	52
10.2. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος και αντιγόνων του PRRSV.....	53
10.3 Απομόνωση και ταυτοποίηση του PRRSV.....	54
11. ΠΡΟΛΗΨΗ.....	54
Α) Εφαρμογή περιοδικών διαγνωστικών δοκιμών σε επίπεδο εκτροφής.....	54
Β) Διαχείριση νεαρών ζώων αντικατάστασης.....	55
Γ) Διαχείριση αναπαραγωγικού πληθυσμού.....	56
Δ) Διαχείριση απογαλακτισμένων χοιριδίων.....	56
12. ΕΜΒΟΛΙΑ – ΕΜΒΟΛΙΑΚΑ ΣΧΗΜΑΤΑ.....	57
12.1. «Ζωντανά» Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (ΕΛΔ) εμβόλια.....	58
12.2 Αδρανοποιημένα (νεκρά) εμβόλια.....	59
<b>Μέρος Β.....</b>	<b>61</b>
<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....</b>	<b>61</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....</b>	<b>63</b>
<b>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>63</b>
1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	64
1.1. Εκτροφές διεξαγωγής του πειραματισμού.....	64
1.2. Κτιριακές εγκαταστάσεις.....	64
1.3. Κριτήρια επιλογής των εκτροφών του πειραματισμού.....	65

1.4. Προληπτικά μέτρα .....	67
<b>2. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ .....</b>	<b>69</b>
2.1. Χρόνος διενέργειας του πειραματισμού.....	69
2.2. Οργάνωση και σχεδιασμός του πειραματισμού .....	70
2.3. Παράμετροι που καταγράφηκαν .....	73
2.4. Δειγματοληψία.....	74
2.5. Εργαστηριακές εξετάσεις .....	75_Toc110275052
<b>3. Περιγραφή των δεδομένων.....</b>	<b>78</b>
3.2. Εξαρτημένη μεταβλητή.....	78
3.2. Ανεξάρτητες μεταβλητές / Παράγοντες επικινδυνότητας.....	80
3.3. Στατιστική ανάλυση .....	81
3.4. Ανάλυση Ευαισθησίας .....	81
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β.....</b>	<b>83</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>83</b>
1. Κλινικά ευρήματα.....	84
1.1. Επιπτώσεις από τον εμβολιασμό των σιών- άμεση τοπική και κλινική αντίδραση	84
1.2. Εκτίμηση αναπαραγωγικών παραμέτρων των σιών.....	84
1.3. Χαρακτηριστικά τοκετοομάδων .....	85
1.4. Εκτίμηση κλινικής εικόνας χοιριδίων.....	88
2. Αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων .....	90
2.1. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στις σύς και στις τοκετοομάδες τους	90
2.2. Φυλογενετική ανάλυση του απομονωμένου στελέχους του PRRSV.....	92
2.3. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV στις σύς και στα χοιρίδια την 1η ημέρα ζώης τους.....	93
2.4. Αξιολόγηση αλλοιώσεων στο πνευμονικό παρέγχυμα.....	100
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ.....</b>	<b>115</b>
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>115</b>
1. Εκτίμηση των αποτελεσμάτων των ορολογικών εξετάσεων.....	117

1.1. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στις σύς.....	117
1.2. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV στις σύς.....	118
1.3. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στα χοιρίδια. ....	119
1.4. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του του PRRSV σε χοιρίδια την 1η ημέρα ζωής τους .....	123
1.5. Αξιολόγηση αλλοιώσεων στο πνευμονικό παρέγχυμα.....	126
2. Κλινική εκτίμηση συών μετά τον εμβολιασμό τους .....	130
2.1. Άμεση τοπική αντίδραση.....	130
2.2. Αναπαραγωγικές αποδόσεις συών .....	131
3. Εκτίμηση κλινικής εικόνας των χοιριδίων μετά τον εμβολιασμό των συών .....	132
Συμπεράσματα.....	134
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>135</b>
<b>ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ .....</b>	<b>135</b>
<b>ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΤΗΣ     ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....</b>	<b>137</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>139</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....</b>	<b>167</b>
<b>SUMMARY OF DOCTORAL THESIS .....</b>	<b>171</b>



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΕΩΝ

ELISA	Ανοσοενζυμική μέθοδος (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
EU	Ευρωπαϊκός (European)
FA	Άμεσος Ανοσοφθορισμός (Fluorescent Antigen)
IHC	Ανοσοϊστοχημεία (Immunohistochemistry)
IFA	Έμμεσος Ανοσοφθορισμός (Indirect Immunofluorescent Assay)
IFN $\alpha$	Ιντερφερόνη $\alpha$ (Interferon $\alpha$ )
IFN $\beta$	Ιντερφερόνη $\beta$ (Interferon $\beta$ )
IFN $\gamma$	Ιντερφερόνη $\gamma$ (Interferon $\gamma$ )
IL	Ιντερλευκίνη (Interleucine)
IPMA	Δοκιμή της ανοσοϋπεροξειδάσης μονής στιβάδας (Immunoperoxidase Monolayer Assay)
Kv	Kilovolt
LV	Ιός του Lelystad (Lelystad Virus)
ORF	Ανοιχτό Αναγωστικό Πλαίσιο (Open Reading Frame)
NA	Βόρειο- Αμερικάνικος (North American)
NK	Φυσικά Φονικά κύτταρα (Natural Killer cells)
PCV2	Κυκλοϊός τύπου 2 του χοίρου (Porcine Circovirus type 2)
RT- PCR	Αντίστροφη Μεταγραφάση- Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction)
SEM	Σαρωτικό Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο (Scanning Electron Microscope)
SN	Οροεξουδετέρωση (Serum Neutralizing)
TNF	Παράγοντας Νέκρωσης του Όγκου (Tumor Necrosis Factor)
PRRS	Αναπνευστικό και Αναπαραγωγικό Σύνδρομο του Χοίρου (Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome, PRRS)
ΔΜ	Δείκτης Μετατρεψιμότητας
ΕΛΔ	Ζωντανά Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (Modified Live Virus, MLV)
MHA	Μέση Ημερήσια Αύξηση

ΜΗΑΣΒ	Μέση Ημερήσια Αύξηση Σωματικού Βάρους
ΠΣΑΑΧ	Πολυσύστηματικό Σύνδρομο Απίσχνανσης των Απογαλακτισμένων Χοιριδίων (Post-weaning Multisystemic Wasting Syndrome, PMWS)
ΣΒ	Σωματικό Βάρος
ΣΔΝΧ	Σύνδρομο Δερματίτιδας και Νεφροπάθειας του Χοίρου (Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome, PDNS)
ΣΕΥΔ	Σύνδρομο Επιλόχειας Υπογαλαξίας Δυσγαλαξίας

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πειραματική μελέτη αναφέρεται στις επιδράσεις των εμπορικά διαθέσιμων, στην Ελλάδα, εμβολίων Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (ΕΛΔ) κατά του ιού του Αναπνευστικού και Αναπαραγωγικού Συνδρόμου του Χοίρου (PRRS) σε πρωτότοκες σύες στο τέλος της κυοφορίας τους. Σκοπός της έρευνας ήταν η διερεύνηση, υπό συνθήκες εκτροφής, των επιπτώσεων του ΕΛΔ εμβολιασμού κατά του PRRS στις έγκυες σύες, στις περιπτώσεις που αυτός διενεργείται στα τελευταία στάδια της κυοφορίας τους. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκαν οι επιπτώσεις στην υγεία τόσο των συών όσο και των νεογέννητων χοιριδίων, ενώ ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε και στην εκτίμηση των επιπτώσεων στην ανοσία και στο αναπνευστικό σύστημα των νεογέννητων χοιριδίων (τόσο σε κλινικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων).

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Παθολογική Κλινική του Τμήματος Κτηνιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Π.Θ.). Η πειραματική έρευνα πραγματοποιήθηκε με την άδεια της Επιτροπής Δεοντολογίας Χρήσης Ζώων (ΕΔΕΧΖΩ) (αριθμ. πρωτ. 65/26-02-2019) μετά την έγκριση σχετικής αίτησης. Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού, ο σταβλισμός και η μεταχείριση των ζώων ακολουθούσαν τους κανόνες του «Good Farm Practice Guidelines-GFP» και δεν υπήρξαν μεταβολές στη διατροφή και τη μεταχείρισή τους. Η ολοκλήρωση της διατριβής θα ήταν αδύνατη δίχως τη συμβολή καθηγητών και συναδέλφων, που νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή μου κ. Βασίλειο Παπατσιρό, ο οποίος ήταν δίπλα μου από την αρχή μέχρι το τέλος στην εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Από την αρχή, έδειξε εμπιστοσύνη στο πρόσωπό μου, προσφέροντάς μου την ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί του και να εκπονήσω την παρούσα διατριβή. Επίσης, τον ευχαριστώ για τον ακούραστο ζήλο και την προθυμία του να μου προσφέρει τη βοήθειά του, την εμπειρία του και τις πολύτιμες συμβουλές του όλο αυτό το διάστημα. Του εκφράζω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη καθώς πέρα των καθηκόντων του ως επιβλέπων, συνέβαλε στη διαμόρφωση της ερευνητικής μου σκέψης και της κλινικής μου εμπειρίας, αλλά και στην καλλιέργεια επαγγελματικής συνείδησης και δεοντολογίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Χριστοδουλόπουλο και Διευθυντή της Παθολογικής Κλινικής, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την αποδοχή της

συνεπίβλεψης της διατριβής μου και την πολύτιμη καθοδήγησή του στην εκπόνηση της διατριβής, αλλά και γενικότερα στην εκπαίδευσή μου στην Παθολογική Κλινική και συγκεκριμένα στη μονάδα της Παθολογίας των Παραγωγικών Ζώων.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κα. Ελένη Τζήκα, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τόσο για την αποδοχή της συνεπίβλεψης της διατριβής μου, όσο και για τις πολύτιμες συμβουλές και εύστοχες υποδείξεις κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα, επίσης, να εκφράσω στον Καθηγητή και Πρύτανη του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης κ. Νικόλαο Παπαϊωάννου, για τη δυνατότητα να συνεργαστώ με το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Α.Π.Θ. και την πολύτιμη καθοδήγησή του στο πειραματικό μέρος της διατριβής που πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο.

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Δήμητρα Ψάλλα για την αμέριστη υποστήριξη και την πολύτιμη συμβολή της στην εκπόνηση της διατριβής μου, και ιδιαίτερα στην διεξαγωγή και αξιολόγηση των ιστοπαθολογικών εξετάσεων της παρούσας μελέτης.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στην αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Λαμπρινή Αθανασίου και επίκουρο καθηγητή κ. Δημήτριο Γκουγκουλή για την καθοδήγησή τους στην συγγραφή της διατριβής, καθώς και στην εκπαίδευσή μου στην Παθολογική Κλινική.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα, την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Ιωάννα Στυλιανάκη για την εξαιρετική συνεργασία και πολύτιμη υποστήριξή της στην διεξαγωγή και αξιολόγηση των ιστοπαθολογικών εξετάσεων της διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Άρη Πούρλη για την πολύτιμη καθοδήγηση στην αξιολόγηση των ευρημάτων από την εξέταση των δειγμάτων στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Πολυχρόνη Κωστούλα και τον υποψήφιο διδάκτορά του κ. Ελευθέριο Μελέτη για την πολύτιμη βοήθειά τους και την άψογη συνεργασία, στη στατιστική ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων του πειραματισμού.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα, επίσης, να εκφράσω στον Καθηγητή Anibal G. Armien (School of Veterinary Medicine, University of California, Davis) για την πολύτιμη βοήθεια τους στην

ερμηνεία και αξιολόγηση των ευρημάτων από την εξέταση των δειγμάτων στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τον ερευνητή κ. Dr. Γεώργιο Νίκα για πολύτιμη συνεργασία στην εξέταση των δειγμάτων στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Τους συναδέλφους και υποψηφίους διδάκτορες της Παθολογικής Κλινικής κ. Νικόλαο Τσεκούρα και κ. Νικόλαο Βουλγαράκη για την αμέριστη συμπαράσταση τους.

Όλα τα μέλη της Παθολογικής Κλινικής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, επιστημονικό και τεχνικό προσωπικό, για την υποστήριξη και τη βοήθειά τους.

Τη φαρμακευτική εταιρεία Hira (Girona, Spain) και στην συνάδελφο κτηνίατρο κα. Γεωργία Λαμπρονίκου για τη σημαντικότερη συμβολή τους στη διενέργεια των εργαστηριακών εξετάσεων.

Τον αδερφό μου, στους φίλους μου και σε όλους τους δικούς μου ανθρώπους για την ανεκτίμητη, αδιάκοπη και πολύτιμη υποστήριξή τους.

Τέλος, το πιο μεγάλο ευχαριστώ θέλω να το απευθύνω στους γονείς μου, Ιωάννη και Τασία, που στάθηκαν πάντα δίπλα μου τόσο στις σπουδές μου όσο και γενικότερα στη ζωή μου. Τους οφείλω άπειρη ευγνωμοσύνη για την αγάπη και την παιδεία που μου χάρισαν.



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλματώδης ανάπτυξη της χοιροτροφίας τα τελευταία 50 χρόνια συνέβαλε σημαντικά, σε παγκόσμιο επίπεδο, στην ικανοποίηση των συνεχώς αυξανόμενων αναγκών σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Η ανάπτυξη αυτή βασίστηκε κυρίως στην εντατικοποίηση της χοιροτροφίας, με την εφαρμογή καινοτόμων μεθόδων διαχείρισης της εκτροφής των χοίρων. Ωστόσο, συνοδεύτηκε και από την εμφάνιση νέων νοσημάτων, τα οποία προκάλεσαν σημαντικές οικονομικές απώλειες στις εκτροφές. Στην εμφάνιση των παραπάνω νοσημάτων κυρίαρχη θέση στη σύγχρονη χοιροτροφία κατέχει το Αναπνευστικό και Αναπαραγωγικό Σύνδρομο του Χοίρου (PRRS) (Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome, PRRS).

Από την αρχική εμφάνιση του PRRS έως και σήμερα, μεγάλος αριθμός ερευνητών έχει ασχοληθεί με τη μελέτη του συνδρόμου, σε παγκόσμιο επίπεδο. Ωστόσο, αν και έχει διερευνηθεί ευρέως ο τρόπος δράσης του υπεύθυνου ιού, το σύνδρομο εξακολουθεί να προκαλεί τεράστιες οικονομικές απώλειες στην παγκόσμια χοιροτροφία. Αυτές οφείλονται κυρίως: α) στις αναπαραγωγικές διαταραχές που προκαλεί ο ιός στις σύς (π.χ. αύξηση αριθμού νεκρών και μωμιοποιημένων χοιριδίων, αδύναμων και ελλιποβαρών χοιριδίων, αύξηση ποσοστού επιστροφών σε οίστρο, αποβολών τελευταίου σταδίου εγκυμοσύνης και πρόωρων τοκετών), β) στην προσβολή του αναπνευστικού συστήματος στα παράγωγα των συών (απογαλακτισμένα χοιρίδια, αναπτυσσόμενους και παχυνόμενους χοίρους) με συνέπειες όπως η αύξηση της θνησιμότητας και ο μειωμένος ρυθμός ανάπτυξης, και γ) στην αύξηση του φαρμακευτικού κόστους για την αντιμετώπιση των δευτερογενών επιπλοκών. Ειδικότερα όσον αφορά τις χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις της Ευρώπης, οι Nieuwenhuis και συν. (2012) και οι Renke και συν. (2021), λαμβάνοντας υπόψη όλες τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν προηγουμένως, υπολόγισαν ότι το κόστος λόγω προσβολής της εκτροφής από τον ιό μπορεί να ανέλθει κατά προσέγγιση σε 126 ευρώ/χοιρομητέρα. Σύμφωνα με τους Holtkamp και συν. (2013) και Nathues και συν. (2017), το αντίστοιχο κόστος στις εκτροφές των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (ΗΠΑ) ανέρχεται περί τα 664 εκατομμύρια δολάρια τον χρόνο. Συμπερασματικά, η μείωση των αποδόσεων των συών και οι αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία και τις αποδόσεις των παραγώγων τους που προκαλούνται από το PRRS, αποτελούν σημαντικό επιβαρυντικό παράγοντα για

την ανάπτυξη της παγκόσμιας χοιροτροφίας, αυξάνοντας δραματικά το κόστος παραγωγής των εκτροφών.

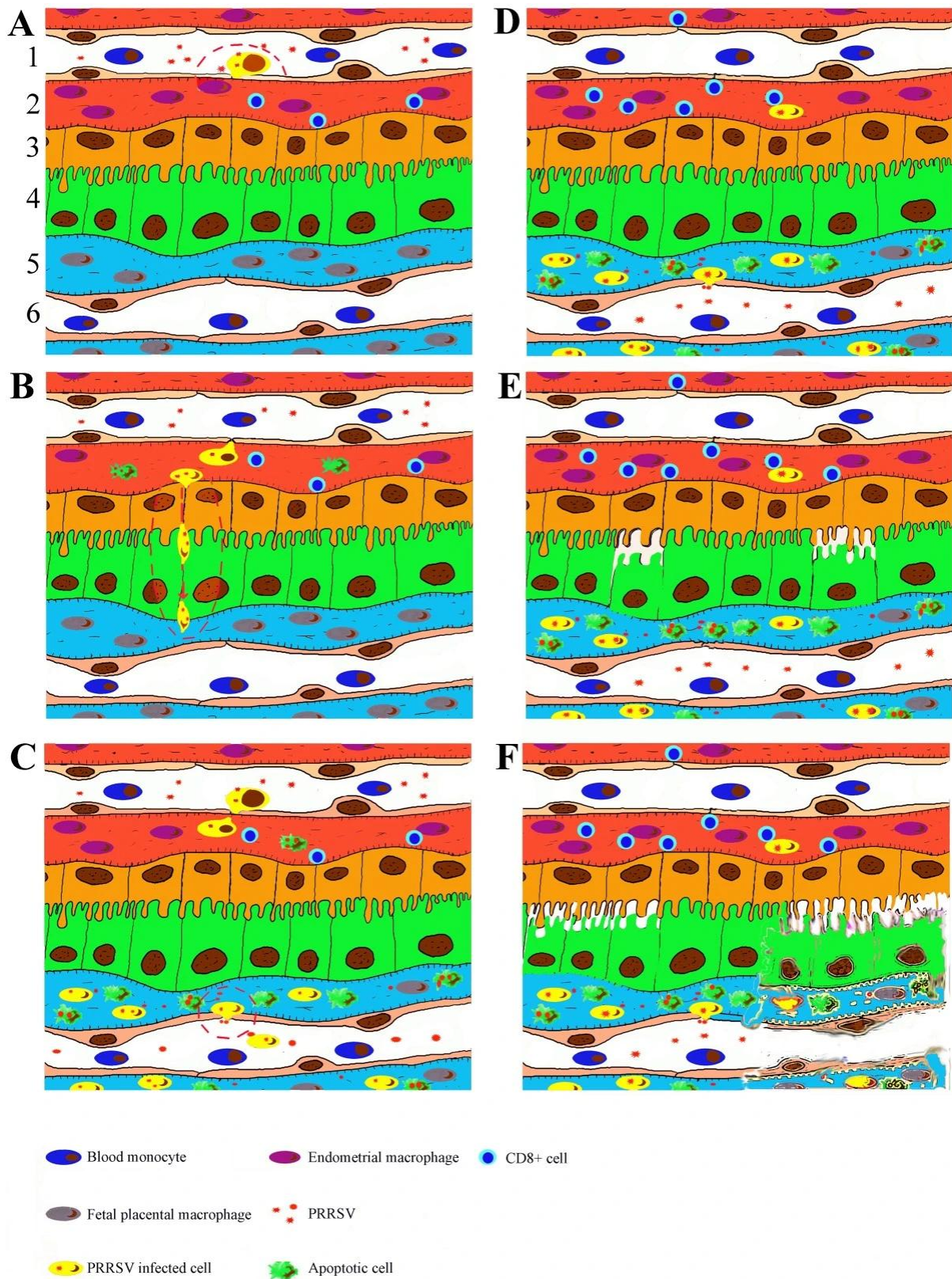
Τα πρώτα χρόνια της εμφάνισης του συνδρόμου, η έρευνα επικεντρώθηκε στη διερεύνηση της αιτιοπαθογένειάς του. Στη συνέχεια, εστιάστηκε και στην πρόληψη και την αντιμετώπιση των οικονομικών απωλειών που προκαλεί, με έμφαση στην ανάπτυξη ασφαλών και αποτελεσματικών εμβολίων, τόσο για τον αναπαραγωγικό όσο και τον παχυνόμενο πληθυσμό. Άλλωστε, όπως προτείνει και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας, η χρήση των εμβολίων συνιστάται ως ο αποτελεσματικότερος και οικονομικότερος τρόπος πρόληψης και προστασίας των πληθυσμών από λοιμώδη νοσήματα.

Τα εμβόλια που διατίθενται στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται ευρέως διακρίνονται σε Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (ΕΛΔ) και Αδρανοποιημένα («Νεκρά») εμβόλια. Ωστόσο, κανένα από αυτά δε θεωρείται πλήρως αποτελεσματικό και δε μπορεί να προσφέρει πλήρη προστασία έναντι του ιού του PRRS. Στη μέχρι σήμερα διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα από τη χρήση τόσο των ΕΛΔ, όσο και των αδρανοποιημένων εμβολίων. Στην κλινική πράξη, η χρήση των αδρανοποιημένων εμβολίων θεωρείται αρκετά ασφαλής, παρέχει όμως μικρό βαθμό προστασίας έναντι του συνδρόμου (Papatsiros και συν. 2006, Scortti και συν. 2007, Vanhee και συν. 2009, Papatsiros 2012a, 2012b, Karniychuk και Nauwynck 2013, Toman και συν. 2019, Chae 2021). Σήμερα, χρησιμοποιούνται ευρέως τα ΕΛΔ εμβόλια τόσο στις σύς όσο και στα χοιρίδια καθώς κρίνονται αρκετά αποτελεσματικά για την πρόληψη και τον έλεγχο του PRRS. Σημαντικός αριθμός ερευνών αναφέρει τη θετική επίδραση των ΕΛΔ εμβολίων στις αναπαραγωγικές παραμέτρους των συών (μείωση του ποσοστού αποβολών τελευταίου σταδίου, επιστροφών σε οίστρο, γέννηση αδύναμων/μουμιοποιημένων χοιριδίων), αλλά και στην πρόληψη εκδήλωσης συμπτωμάτων από το αναπνευστικό σύστημα (Kritas και συν. 2000, Labarque και συν. 2003, Nilubol και συν. 2004, Alexopoulos και συν. 2005, Papatsiros 2012b, Lunney και συν. 2016, Nan και συν. 2017, Toman και συν. 2019, Chae 2021).

Ωστόσο, παρά τις θετικές επιδράσεις των ΕΛΔ εμβολίων στον έλεγχο του συνδρόμου, τα αποτελέσματα τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* πειραματισμών ανέδειξαν σημαντικούς προβληματισμούς για την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα και τους περιορισμούς των συγκεκριμένων εμβολίων. Ειδικότερα, μελέτες έχουν αναφερθεί στην ιαιμία που ΕΛΔ εμβολιακού στελέχους του ιού που είναι



δυνατόν να παρατηρηθεί στα εμβολιασμένα ζώα και στη μετέπειτα μετάδοσή του σε υγιή ζώα της εκτροφής (Benfield και συν. 1997, Scotti και συν. 2006). Επιπροσθέτως, έχει αποδειχθεί η ικανότητα του ιού να διαπερνά τον πλακούντα, μετά την 90<sup>η</sup>-95<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας. Συγκεκριμένα, οι Karniychuk και Nauwynck (2013) περιέγραψαν λεπτομερώς τον τρόπο με τον οποίο ο ιός μπορεί να διαπερνά τον πλακούντα των συών και προσβάλλει τα έμβρυα (Εικόνα 1). Αξιοσημείωτο είναι ότι ο ενδοθηλιακός χοίρειος πλακούντας παρουσιάζει μία ιδιαίτερα πολύπλοκη δομή, λειτουργώντας ως ένας σταθερός φραγμός που εμποδίζει ακόμα και την είσοδο των μητρικών αντισωμάτων στα έμβρυα (Navarro και συν. 2001, Guzman-Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021).



**Εικόνα 1.** Αλληλουχία γεγονότων κατά τη διάρκεια κάθετης μετάδοσης του ιού του PRRS από το ενδομήτριο στα έμβρυα.

- A) Κατά τη διάρκεια της ιαιμίας, ο ιός του PRRS (PRRSV) προσκολλάται και στη συνέχεια εισέρχεται και αντιγράφεται σε μονοκύτταρα μέσω των οποίων διασπείρεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του ενδομητρίου
- B) Ο ιός αναπαράγεται στα μακροφάγα του ενδομητρίου. Κατά την αντιγραφή του εντός του ενδομητρίου, ο ιός προκαλεί απόπτωση των μολυσμένων και περιβαλλόντων κυττάρων. Στη συνέχεια, σε συνδυασμό με τα μητρικά μακροφάγα, διασχίζει το επιθήλιο της μήτρας και την τροφοβλάστη.
- C) Εστιακή αντιγραφή του ιού σε μακροφάγα του εμβρυϊκού πλακούντα και απόπτωση σε μολυσμένα και περιβάλλοντα κύτταρα. Ακολούθως, μέσω της ομφαλικής κυκλοφορίας, ο ιός φτάνει στα εσωτερικά όργανα του εμβρύου.
- D) Η μητρική ανόσια ( $CD8^+$  κύτταρα και ενδομήτρια NK κύτταρα) καταστέλλει την αντιγραφή του ιού εντός του ενδομητρίου. Εστιακή αντιγραφή του ιού στον πλακούντα.
- E) Εστιακή απόσπαση της τροφοβλάστης από το επιθήλιο της μήτρας και εστιακός εκφυλισμός του πλακούντα στα σημεία αντιγραφής του ιού.
- F) Πλήρης εκφυλισμός του πλακούντα στα σημεία αντιγραφής του ιού και σε παρακείμενες περιοχές.
- (Πηγή: Karniychuk και Nauwynck 2013).

Λαμβάνοντας υπόψη το σημαντικά μεγαλύτερο μέγεθος του γονιδιώματος του ιού (διάμετρος 50-65 nm) σε σχέση με αυτό των μητρικών αντισωμάτων (12 nm) (Van Gorp και συν. 2008), εύλογα συμπεραίνεται ο υψηλός βαθμός δυσκολίας που συναντά ο ιός στην προσπάθειά του να διαπεράσει τον πλακούντα και να μεταδοθεί στα έμβρυα. Κυρίαρχο ρόλο, στην πρόκληση της κάθετης μετάδοσης έχουν τα μακροφάγα  $Sn^+$  και  $CD163^+$ , λόγω του τροπισμού που παρουσιάζει ο ιός προς αυτά (Van Gorp και συν. 2008, Karniychuk και Nauwynck 2013). Τα συγκεκριμένα μακροφάγα εντοπίζονται στο ενδομήτριο και στον πλακούντα και μέσω της σύνδεσής τους με αυτά ο ιός έχει την ικανότητα να διαπερνά τον πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα. Αφότου ο ιός εισέλθει στο χοιρίδιο κατευθύνεται αρχικά στα κυψελιδικά μακροφάγα του πνεύμονα προκαλώντας αλλοιώσεις με συνέπεια την εμφάνιση αναπνευστικών συμπτωμάτων στα νεογέννητα χοιρίδια (Cheon και Chae 2001, Stadejek και συν. 2002, Neumann και συν. 2005, Prieto και Castro 2005, Karniychuk και συν. 2013, Ladinig και συν. 2015). Οι Karniychuk και Nauwynck (2013) προσδιόρισαν τη συγκέντρωση των  $Sn^+$  και  $CD163^+$

μακροφάγων στο ενδομήτριο και στον πλακούντα στα διάφορα στάδια της κυοφορίας των σιών. Συγκεκριμένα διαπίστωσαν ότι εντοπίζονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις πριν από την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας. Αντίθετα, μετά την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται κατακόρυφα, γεγονός που εξηγεί την κάθετη μετάδοση στα τελευταία στάδια της κυοφορίας.

Τα πρωτόκολλα εμβολιασμού που έχει υιοθετήσει και εφαρμόζει η πλειοψηφία των σύγχρονων εκτροφών, περιλαμβάνουν έναν αρχικό διπλό εμβολιασμό στις νεαρές σύς πριν την επίβαση ή τεχνητή σπερματέγχυση (π.χ. 160<sup>η</sup> + 190<sup>η</sup> ημέρα της ζωής τους) προκειμένου να επιτευχθεί η εγκατάσταση υψηλού βαθμού ανοσίας έναντι του ιού. Ακολουθεί η χορήγηση αναμνηστικής δόσης του εμβολίου την 60<sup>η</sup> μέρα της κυοφορίας και την 6<sup>η</sup> μέρα της γαλουχίας. Εναλλακτικά, εφαρμόζεται η μέθοδος των μαζικών εμβολιασμών («mass vaccination») και ο αναμνηστικός εμβολιασμός πραγματοποιείται ταυτόχρονα σε όλες τις σύς κάθε 3-4 μήνες. Ωστόσο, εγείρονται συγκεκριμένοι προβληματισμοί στη μέθοδο του μαζικού εμβολιασμού που μπορεί να ενέχουν κινδύνους για την υγεία των σιών και των χοιριδίων. Ειδικότερα, υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με την ικανότητα του ιού να διαπερνά τον πλακούντα μετά την 90<sup>η</sup>-95<sup>η</sup> μέρα της κυοφορίας και την πιθανή μόλυνση των εμβρύων που μπορεί να επέλθει (Jiang και συν. 2000; Bierk και συν. 2001; Mateusen και συν. 2007; Van Gorp και συν. 2008; Karniychuk και συν. 2013, Papatsiros και συν. 2022). Ως εκ τούτου, ο εμβολιασμός των σιών που βρίσκονται στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας εγείρει πολλά ερωτήματα σχετικά με την ασφάλεια, ενώ σημαντικός αριθμός ερευνητών προτείνουν την αποφυγή του συγκεκριμένου εμβολιασμού για την αποφυγή του ενδεχόμενου κάθετης μετάδοσης του ιού

## ΣΚΟΠΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΡΩΤΟΤΥΠΙΑΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Έναυσμα για τον σχεδιασμό της παρούσας διατριβής αποτέλεσε ο σημαντικός αριθμός των εμπορικών εκτροφών που εφαρμόζουν στρατηγική μαζικού εμβολιασμού των σιών κατά του ιού του PRRS, χωρίς όμως να εξαιρούν από το εμβολιακό σχήμα τις έγκυες σύς που βρίσκονται στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας τους. Εκτροφές που εμβολιάζουν μαζικά με ΕΛΔ εμβόλια είναι απαραίτητο να μεριμνούν, ώστε να εξαιρούνται από τον εμβολιασμό οι έγκυες σύες μετά την 90<sup>η</sup>-95<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας προκειμένου να αποτρέπεται η πιθανή διαπλακουντική μόλυνση. Επίσης, σημαντικό έναυσμα για τον πειραματικό σχεδιασμό της διατριβής αποτέλεσε η ύπαρξη στη, μέχρι σήμερα γνωστή, διεθνή βιβλιογραφία, σημαντικού αριθμού δημοσιεύσεων που αναφέρονται στην επικινδυνότητα του εμβολιασμού των σιών στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας τους χωρίς ωστόσο, να έχει παράλληλα διερευνηθεί η ικανότητα του εμβολιακού ΕΛΔ στελέχους του ιού να δρα ως «φυσικός-άγριος» ιός, προκαλώντας δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία των σιών και των τοκετοομάδων τους (Benfield και συν. 1997, Cheon και Chae 2001, Stadejek και συν. 2002, Scotti και συν. 2006, Ladinig et al. 2015, Zimmerman και συν. 2019). Πρόσφατη έρευνα στην Ελλάδα έδειξε ότι ο μαζικός εμβολιασμός των σιών στα τελευταία στάδια της κυοφορίας αποτελεί σημαντικό παράγοντα επικινδυνότητας για την ανίχνευση και την κυκλοφορία του ιού στις εκτροφές (Papatsiros και συν. 2022).

Κύριο στόχο της διατριβής αποτέλεσε η διερεύνηση, για πρώτη φορά, του συνόλου των επιπτώσεων του εμβολιασμού εγκύων σιών κατά του PRRS με ΕΛΔ εμβόλια στα τελευταία στάδια της κυοφορίας στην υγεία των σιών και των χοιριδίων. Ειδικότερα, η έρευνα επικεντρώθηκε στη μελέτη των επιπτώσεών του στην ανοσία και το αναπνευστικό σύστημα των νεογέννητων χοιριδίων τόσο σε κλινικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή περιλαμβάνει δύο κύρια μέρη:

- α) τη βιβλιογραφική ανασκόπηση του PRRS (αιτιοπαθογένεια, επιζωοτιολογία, κλινική εικόνα, παθολογοανατομικές αλλοιώσεις, διάγνωση και πρόληψη).
- β) αναλυτική παρουσίαση του πειραματικού σχεδιασμού, των αποτελεσμάτων της έρευνας και της συζήτησης των αποτελεσμάτων.



# **Μέρος Α**

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**

## 1. ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Το 1987 εμφανίστηκε και περιγράφηκε για πρώτη φορά στη Β. Αμερική (ΗΠΑ, Καναδάς) ένα νέο νόσημα των χοίρων που χαρακτηρίζονταν από την εκδήλωση διαταραχών από το αναπνευστικό και αναπαραγωγικό σύστημα (Keffaber 1989, Loula 1991, Dea και συν. 1990). Λίγα χρόνια αργότερα (1990), το νόσημα εμφανίστηκε και στην Ευρώπη. Η πρώτη απομόνωσή και ταυτοποίησή του έγινε στη Γερμανία (Lindhaus και Lindhaus 1991, ΟΙΕ 1992) και ακολούθησε, με ταχύτατους ρυθμούς, η εξάπλωσή του και σε άλλες χώρες όπως η Ολλανδία (Wensvoort και συν. 1991), η Γαλλία (Baron και συν. 1992, ΟΙΕ 1992), το Βέλγιο (ΟΙΕ 1992), το Ηνωμένο Βασίλειο (Edwards και συν. 1992), η Ισπανία (Plana-Duran και συν. 1997), η Δανία (Bøtner και συν. 1994), η Πολωνία (Pejsak και Markowska 1996) και η Τσεχία το 1995 (Valíček και συν. 1997). Οι πρώτες αναφορές του στην Ασία έγιναν στην Ιαπωνία το 1988 (Hirose και συν. 1995). Στην Ελλάδα, αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1993 (Xilouri-Frangiadaki 1993, Kyriakis και συν. 1996). Η αρχική ονομασία του νοσήματος, λόγω αδυναμίας διευκρίνισης του αιτιολογικού παράγοντα, ήταν «Μυστηριώδης Νόσος του Χοίρου» (Mystery Swine Disease, MSD) ή «Νόσος του Μπλε Αυτιού» (Blue Ear Disease) εξαιτίας της εμφάνισης κυάνωσης στα αυτιά των νοσούντων χοίρων (Dial και συν. 1990). Στη Β. Αμερική το νόσημα ονομάστηκε «Swine Infertility and Respiratory Syndrome» (SIRS). Τελικά το 1991, το νόσημα ονομάστηκε επισήμως «Αναπνευστικό και Αναπαραγωγικό Σύνδρομο του Χοίρου, PRRS» (Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome, PRRS) (Benfield και συν. 1992).

Στην αρχή, πολλοί αιτιολογικοί παράγοντες θεωρήθηκαν ως υπεύθυνοι για την πρόκληση της «Μυστηριώδους Νόσου του Χοίρου»: ο ιός της εγκεφαλομυοκαρδίτιδας του χοίρου, η κλασική πανώλη των χοίρων, ο χοίρειος εντεροϊός, ο χοίρειος παρβοϊός, η νόσος του Aujeszky (Kyriakis 1991). Ωστόσο, το 1991 στο Ινστιτούτο Centraal Diergeneeskundig Instituut - Lelystad της Ολλανδίας ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ένας νέος ιός που είχε απομονωθεί από πνευμονικά κυψελιδικά μακροφάγα νοσούντων χοίρων. Στον ιό αυτό δόθηκε το όνομα «ιός του Lelystad (Lelystad virus-LV)» (Wensvoort και συν. 1991). Το 1991 απομονώθηκε στις ΗΠΑ ένα διαφορετικό στέλεχος του ιού, παρόμοιο με το προηγούμενο, το οποίο ονομάστηκε VR-2332 (Benfield και συν. 1992, Collins και συν. 1992), ενώ το 1992 ο ιός απομονώθηκε και στον Καναδά (Dea και συν. 1992a, b). Την ίδια



περίοδο διαπιστώνεται ότι οι ιοί που κυκλοφορούν στην Αμερική και την Ευρώπη είναι διαφορετικοί και αναφέρεται πλέον η ύπαρξη δύο γονοτύπων του ιού του PRRS, του ευρωπαϊκού (ή τύπου 1) και του αμερικάνικου (ή τύπου 2) (Murtaugh και συν. 1995). Στη συνέχεια, διαπιστώθηκε η ύπαρξη των δύο γονοτύπων του ιού και στην Ασία (Thanawongnuwech και συν. 2004).

Σήμερα, 30 χρόνια μετά την πρώτη απομόνωση του υπεύθυνου ιού, το PRRS εξακολουθεί να αποτελεί σοβαρό πρόβλημα της σύγχρονης χοιροτροφίας που ευθύνεται για την πρόκληση σημαντικών οικονομικών απωλειών. Το σύνδρομο εκδηλώνεται τόσο με τη χρόνια μορφή του ως αναπνευστική νόσος, συμμετέχοντας στην αιτιολογία του Αναπνευστικού Συνδρόμου των Αναπτυσσόμενων και Παχυνόμενων Χοίρων (ΑΣΑΠΧ ) (Porcine Respiratory Disease Complex, PRDC), όσο και με την οξεία μορφή του, η οποία χαρακτηρίζεται από αναπαραγωγικές διαταραχές στις σύς και αναπνευστικά συμπτώματα στα απογαλακτισμένα χοιρίδια και τους αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους (Benfield και συν. 1999, Feng και συν. 2001, Papatsiros και συν. 2006, Rowland και συν. 2010, Papatsiros 2012a, Stadejek και συν. 2013). Ωστόσο, παρά την ανάπτυξη και την ευρεία παραγωγή των εμβολίων, η πρόληψη και ο έλεγχος του συνδρόμου παρουσιάζει σοβαρές αδυναμίες και δυσκολίες στη σύγχρονη χοιροτροφία (Shi και συν. 2010, Papatsiros 2012b).

## 2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

### 2.1. Ιός του PRRS (PRRSV)

Ο ιός του PRRS (Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome virus, PRRSV) είναι ένας RNA ιός, ο οποίος ανήκει στην τάξη Nidovirales, την οικογένεια *Arteriviridae* και το γένος *Porarterivirus* σύμφωνα με τη Διεθνή Επιτροπή Ταξινόμησης των Ιών (International Committee of Taxonomy of Viruses) (Cavanagh 1997, Adams και συν. 2016). Στην οικογένεια *Arteriviridae* επίσης, οι ιοί της λοιμώδους αρτηρίτιδας των ιπποειδών, της αύξησης της γαλακτικής αφυδρογονάσης των ποντικών και του αιμορραγικού πυρετού των πιθήκων (Cavanagh, 1997, Lunney et al. 2016). Πρόσφατα, αναφέρθηκε ότι στο γένος *Porarterivirus* ανήκουν και δύο επιπλέον ιοί που δεν μολύνουν του χοίρους (Lactate dehydrogenase-elevating virus and Rat Arterivirus 1) (Lunney και συν. 2016).

Η ένταξη των παραπάνω ιών σε μία οικογένεια προέκυψε έπειτα από γενετική ανάλυση του ευρωπαϊκού (Lelystad virus, LV) και του αμερικανικού στελέχους (VR-2332) του ιού, η οποία έδειξε δομική, μορφολογική, βιολογική και αντιγονική συγγένεια με τους υπολοίπους ιούς της οικογένειας *Arteriviridae* (Papatsiros και συν. 2012a, Stadler και συν. 2016). Τα κοινά χαρακτηριστικά τους αφορούν στην ικανότητά τους να προκαλούν είτε ασυμπτωματική είτε σοβαρή νόσο (ενίοτε με υψηλή θνησιμότητα), στην υψηλή παραλλακτικότητα του γονιδιώματός τους και στην μόλυνση κυρίως των μακροφάγων κυττάρων. Η γενετική ανάλυση των στελεχών του ιού σε Ευρώπη και Αμερική απέδειξε πως παρόλο που το ευρωπαϊκό (LV) και το αμερικανικό στέλεχος (VR-2332) ανήκουν στον ίδιο ιό, αποτελούν δύο διαφορετικούς γενότυπους του. Οι γενότυποι αυτοί ονομάστηκαν και αναφέρονται σήμερα ως: α) PRRS- τύπου 1 για τα ευρωπαϊκά στελέχη του ιού (PRRSV-1, EU genotype) και β) PRRS- τύπου 2 για τα αμερικανικά στελέχη του ιού (PRRSV- 2, NA genotype) (Murtaugh και συν. 1995, Kappes και συν. 2015, Stadejek και συν. 2002, 2006, 2008, 2013, Stadler και συν. 2016).

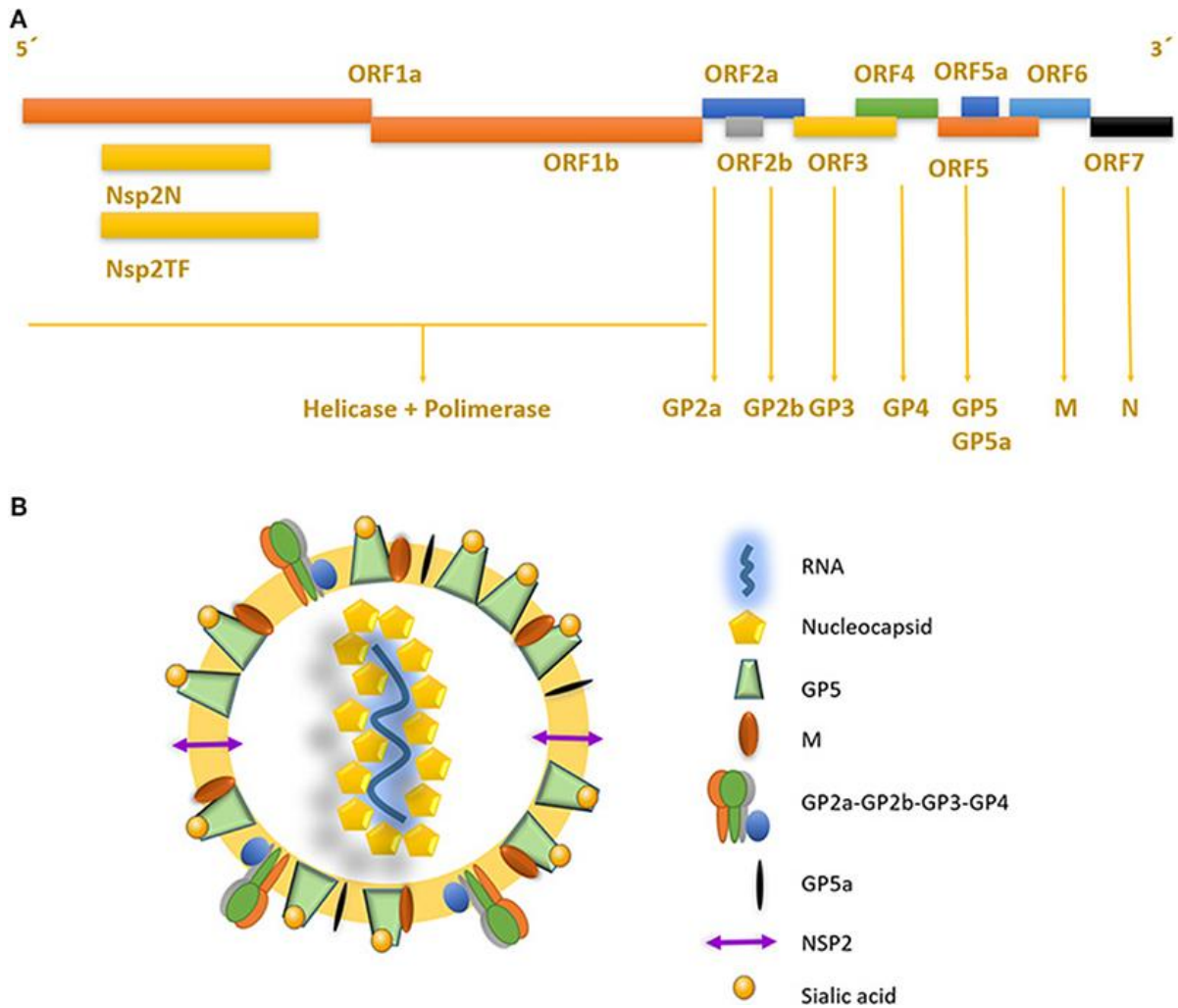
## **2.2. Γονιδίωμα του PRRSV**

Ο ιός του PRRS έχει σφαιρικό σχήμα με διάμετρο που κυμαίνεται από 50 έως 65 nm. Εσωτερικά αποτελείται από το νουκλεϊκό οξύ και το νουκλεοκαψίδιο που το περιβάλλει και εξωτερικά από το περίβλημά του (Benfield και συν. 1992, Dea και συν. 1995). Το νουκλεϊκό οξύ του έχει μέγεθος 15,1 kb και είναι ευθύγραμμο, μονόκλωνο, πολυαδενυλιωμένο RNA θετικής πολικότητας. Όσον αφορά τον νουκλεοκαψιδικό πυρήνα του, έχει συμμετρία εικοσαέδρου, διαμέτρου 25 με 35 nm και περιβάλλεται από λιπιδικό φάκελο στον οποίο περιλαμβάνονται οι πρωτεΐνες του περιβλήματος (Murtaugh και συν. 1995, Snijder και Meulenberg 1998, Wootton και συν. 2000, Zimmerman και συν. 2006).

Σχετικά με το ευρωπαϊκό στέλεχος του ιού (Lelystad virus, LV) έχει πραγματοποιηθεί πλήρης χαρτογράφηση του γονιδιώματός του (Murtaugh και συν. 1995, Wootton και συν. 2000). Περιλαμβάνει 9 ORFs (ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης-open reading frames) που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του (Snijder και συν. 1999, Wootton και συν. 2000, Montaner-Tarbes και συν. 2020). Στο 5' άκρο (μεγέθους 12 kb) βρίσκονται τα ORFs 1a και 1b, που αποτελούν το 80% περίπου του γονιδιώματος του ιού και είναι υπεύθυνα για την κωδικοποίηση των μη δομικών πρωτεϊνών του

(nonstructural proteins, nsp) (Meulenberg και συν. 1995, Snijder και συν. 1995, Wootton και συν. 2000, Bautista και συν. 2002). Στο 3' άκρο (μεγέθους 3,5 kb) του γονιδιώματος βρίσκονται τα ORFs 2a έως 7 τα οποία είναι υπεύθυνα για την κωδικοποίηση των έξι δομικών πρωτεϊνών του (Dea και συν. 2000, Wootton και συν. 2000, Montaner-Tarbes και συν. 2020). Οι τέσσερις από αυτές αποτελούν γλυκοπρωτεΐνες (GP) της εξωτερικής επιφάνειας του περιβλήματος. Έχουν ταυτοποιηθεί ως GP2a, 2b, GP3, GP4, GP5 και κωδικοποιούνται από τα αντίστοιχα ORF2a έως ORF5. Όσον αφορά στις υπόλοιπες δομικές πρωτεΐνες, η μία εξ'αυτών ανήκει στην πρωτεϊνική μεμβράνη του περιβλήματος (M, κωδικοποιείται από το ORF6) και η άλλη στο καψίδιο (N, κωδικοποιείται από το ORF7) (Benfield και συν. 1992, Dea και συν. 2000, Wootton και συν. 2000, Montaner-Tarbes και συν. 2020). Οι κυριότερες δομικές πρωτεΐνες του ιού είναι οι N, M και GP5, αντιπροσωπεύοντας το 90-95% του συνόλου των πρωτεϊνών του (Meulenberg και συν. 1995, Bautista και συν. 1996, Snijder και συν. 1999, Montaner-Tarbes και συν. 2020) (Εικόνα 2). Τέλος, η πρωτεΐνη M και η σύνδεση M-GP5 αποτελούν τον αντιυποδοχέα του PRRSV για την προσρόφησή του στα κυψελιδικά μακροφάγα (Delputte και συν. 2002, Montaner-Tarbes και συν. 2020).

Κάθε ιική πρωτεΐνη της μεμβράνης του ιού είναι απαραίτητη για την παραγωγή επαρκούς ποσότητας ικών σωματιδίων, ικανών να προκαλέσουν μόλυνση. Ειδικότερα, οι πρωτεΐνες GP5, M και N έχουν καθοριστικό ρόλο στον σχηματισμό των ικών σωματιδίων και τη μολυσματικότητά τους. Οι GP2a, GP3, GP4 είναι ελάσσονος σημασίας πρωτεΐνες για τη δομή των ικών σωματιδίων, ωστόσο συμβάλουν σημαντικά στη μολυσματική τους ικανότητα (Wissink και συν. 2005).



**Εικόνα 2.** Σχηματική παράσταση της δομής γονιδιώματος και ώριμο ικό σωματίδιο του ιού PRRSV (Πηγή: Montaner-Tarbes και συν. 2020).

### 2.3. Γενετική παραλλακτικότητα των στελεχών του PRRSV

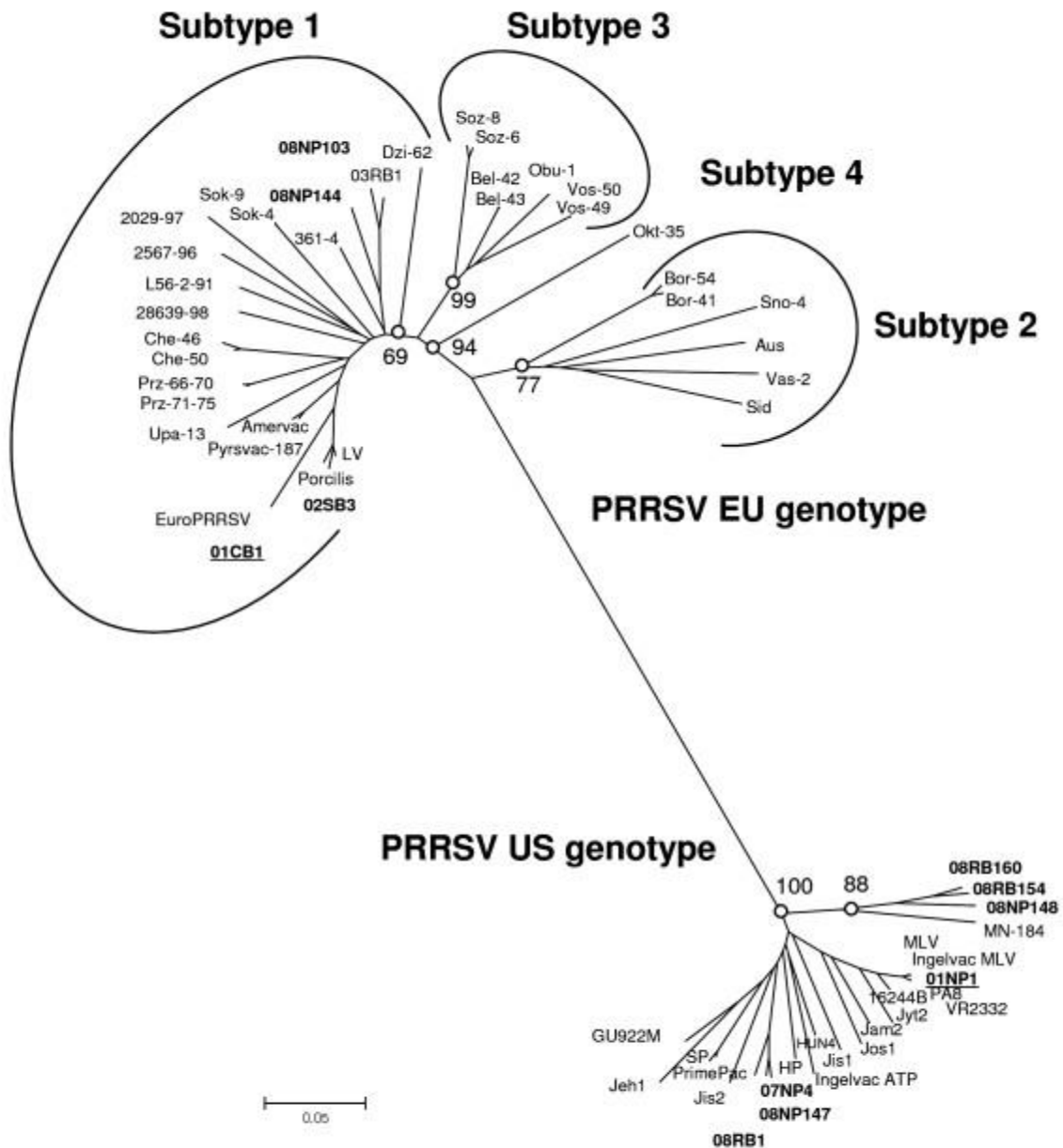
Τα στελέχη που έχουν απομονωθεί στην Ευρώπη και την Αμερική παρουσιάζουν σημαντικές γενετικές και αντιγονικές διαφορές, ενδεικτικό της μεγάλης γενετικής ποικιλομορφίας που εμφανίζει ο PRRSV. Αποφασιστικό ρόλο στη γενετική ποικιλομορφία αλλά και την εξέλιξη του ιού κατέχει η συχνή εμφάνιση του φαινομένου των μεταλλάξεων και του γενετικού ανασυνδυασμού (Li και συν. 2009, Shi και συν. 2010).

Σχετικά με τη γενετική ποικιλομορφία του ιού, αυτός διακρίνεται σε δύο ξεχωριστούς γενοτύπους, τον ευρωπαϊκό (πρότυπο στέλεχος ο ιός του Lelystad-Lelystad Virus, LV) και τον αμερικάνικο (πρότυπο στέλεχος το VR-2332) (Shi και συν. 2010). Οι συγκεκριμένοι γενοτύποι αν και εμφανίστηκαν σχεδόν ταυτόχρονα και προκαλούν την εκδήλωση παρόμοιας κλινικής νόσου,

παρουσιάζουν βιολογικές και αντιγονικές διαφορές. Οι διαφορές αυτές διαμόρφωσαν τον χαρακτηρισμό των ευρωπαϊκών ως στελέχη τύπου 1 (PRRSV- 1) και των αμερικάνικων ως στελέχη τύπου 2 (PRRSV- 2) (Shi και συν. 2010, Stadejek και συν. 2013).

Η έντονη γενετική παραλλακτικότητα ανάμεσα στους δύο γενοτύπους του ιού επιβεβαιώθηκε μέσω της ανάλυσης της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων και των αμινοξέων των περιοχών ORFs. Το ποσοστό ομοιότητας, μεταξύ των δύο στελεχών στο ανέρχεται σε 55-78% σε επίπεδο αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων και σε 50-80% σε επίπεδο αλληλουχίας των αμινοξέων (Music και Gagnon 2010). Η πρωτεΐνη GP5 αποτελεί την πιο μεταβλητή δομική πρωτεΐνη του ιού παρουσιάζοντας ομοιότητα 51-55% μεταξύ των δύο γενοτύπων, σε επίπεδο νουκλεοτιδίων. Αντίθετα, οι πρωτεΐνες M και N είναι οι περισσότερο συντηρημένες μεταξύ των στελεχών του ευρωπαϊκού και αμερικανικού γενοτύπου (Pesente και συν. 2006). Ωστόσο, βιολογικές και γενετικές διαφορές δεν έχουν εντοπιστεί μόνο μεταξύ των ευρωπαϊκών και αμερικάνικων στελεχών αλλά και μεταξύ στελεχών που ανήκουν στην ίδια ομάδα (Andreyev και συν. 1997, Mengeling και συν. 1997, Indik και συν. 2000, Forsberg και συν. 2002, Pesente και συν. 2006, Stadejek και συν. 2006, 2008, 2013). Επιπρόσθετα, γενετική παραλλακτικότητα έχει αναφερθεί ακόμη και σε περιπτώσεις στελεχών που απομονώθηκαν ταυτόχρονα στην ίδια εκτροφή (Goldberg και συν. 2000, Dee και συν. 2004).

Σημαντικός αριθμός υποτύπων έχει ταυτοποιηθεί και στους δύο γενοτύπους του ιού. Συγκεκριμένα, στον PRRSV-1 υπάρχουν τουλάχιστον 4 διαφορετικοί υπότυποι: ο υπότυπος 1 που εντοπίζεται σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης, ενώ οι υπότυποι 2, 3 και 4 έχουν απομονωθεί, κυρίως, σε χώρες της Ανατολικής Ευρώπης (Εικόνα 3). Το πλήθος των υποτύπων του PRRSV- 1 εντοπίζεται πλέον ακόμα και σε χώρες της Βόρειας Αμερικής ή και της Ασίας. Όσον αφορά στον PRRSV- 2, έχουν ανιχνευθεί 9 φυλογενετικές γραμμές καταναμημένες σε δύο διαφορετικούς κλάδους και εντοπίζονται πλέον σε χώρες με ανεπτυγμένη χοιροτροφία της Β. Αμερικής, Ασίας και Ευρώπης.



**Εικόνα 3.** Φυλογενετική ανάλυση στελεχών του PRRSV και των δύο γενοτύπων του ιού (PRRSV EU genotype και PRRSV US genotype). Διακρίνονται, ακόμη, οι τέσσερις υπότυποι του Ευρωπαϊκού γενοτύπου (Subtypes 1, 2, 3, 4), όπως και οι εννέα διακριτοί κλάδοι του Αμερικανικού γενοτύπου. (Πηγή: Amonsin και συν. 2009).

Τα διάφορα στελέχη του ιού παρουσιάζουν διαφορές και ως προς τη λοιμογόνο δύναμή τους. Η πρώτη διαφορά που εντοπίστηκε αφορούσε τη συχνή εμφάνιση κυνάνωσης στα αυτιά, τον αυχένα, το ρύγχος, τη βουβωνική χώρα και το αιδοίο σε περιπτώσεις κλινικής εκδήλωσης του συνδρόμου σε ευρωπαϊκές χώρες, αλλά όχι στη Β. Αμερική. Επιπρόσθετα, μελέτες έδειξαν ότι τα στελέχη του ιού είναι δυνατό να ταξινομηθούν σε υψηλής και χαμηλής λοιμογόνου δύναμης ανάλογα με τη

σοβαρότητα των μακροσκοπικών και μικροσκοπικών αλλοιώσεων που προκαλούν στους πνεύμονες των χοίρων (Halbur και συν. 1995, 1996b, Stadejek και συν. 2002, 2006, 2008, 2013). Βρέθηκε, επίσης, ότι κάποια στελέχη του ιού είναι πιθανότερο να ευθύνονται για την εμφάνιση ρινίτιδας, εγκεφαλίτιδας και μυοκαρδίτιδας (Halbur και συν. 1996b, Martin-Valls και συν. 2014). Πειραματικές μελέτες με χαμηλής και υψηλής λοιμογόνου δύναμης πνευμονοτρόπα στελέχη σε έγκυες σύς, για τη διερεύνηση του πιθανού ρόλου τους στην πρόκληση αναπαραγωγικών διαταραχών, έδειξαν ότι δεν υπάρχει συσχέτιση της λοιμογόνου δύναμης του στελέχους με την πρόκληση διαταραχών στο αναπαραγωγικό σύστημα της σύς (Mengeling και συν. 1996a, Martin-Valls και συν. 2014, Kappes και συν. 2015). Επιπλέον, πολλές είναι οι μελέτες που έχουν αναφερθεί στην ύπαρξη μη παθογόνων στελεχών του ιού (Ohlinger και συν. 1992, Stadejek και συν. 2002, 2006, 2008, 2013). Τέλος, το καλοκαίρι του 2006 απομονώθηκαν στην Κίνα στελέχη του ιού τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως «υψηλά παθογόνα» («highly-pathogenic, HP- PRRSV) και ανήκαν στο γενότυπο PRRSV-2. Την αρχική εμφάνιση των «υψηλά παθογόνων» στελεχών του συνδρόμου ακολούθησε η ταχύτατη εξάπλωσή τους σε πολλές χώρες της Ασίας, όπως η Ταϊλάνδη, το Βιετνάμ και οι Φιλιππίνες (Zhou και συν. 2008, Shi και συν. 2010).

#### **2.4. Ανθεκτικότητα PRRSV**

Σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της λοιμογόνου δύναμης του ιού έχουν τόσο η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, όσο και το pH. Ο ιός έχει την ικανότητα να παραμένει σταθερός σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες για μεγάλο χρονικό διάστημα. Συγκεκριμένα, μπορεί να διατηρηθεί στους  $-20^{\circ}\text{C}$  έως και τους  $-70^{\circ}\text{C}$  για αρκετούς μήνες έως χρόνια. Αντίθετα, σε θερμοκρασία  $4^{\circ}\text{C}$  είναι δυνατόν να χαθεί έως και το 90% της λοιμογόνου ικανότητάς του εντός διαστήματος 7 περίπου ημερών. Ακόμη, η λοιμογόνος δύναμή του διατηρείται για 1 έως 6 μέρες στους  $20-21^{\circ}\text{C}$ , 3 έως 24 ώρες στους  $37^{\circ}\text{C}$  και 6 έως 20 λεπτά στους  $56^{\circ}\text{C}$  (Benfield και συν. 1999, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Όσον αφορά στη σχέση του με το pH, αυτός δεν επηρεάζεται σε τιμές pH 6,5-7,5, αλλά χάνει τη λοιμογόνο του δύναμη σε τιμές  $< 6$  και  $> 7,5$  (Benfield και συν. 1992). Επιπλέον, αδρανοποιείται με τη χρήση απολυμαντικών που διαλύουν τα λιπίδια, όπως το χλωροφόρμιο και ο αιθέρας (Dee και συν. 2005, Bowman και συν. 2018, Benjamin 2018). Τέλος, έχει διαπιστωθεί η αδρανοποίηση του ιού τόσο

στη υπογλωριώδες νάτριο (0,03%) σε 10 λεπτά όσο και στο ιώδιο (0,0075%) σε 1 λεπτό (Booth και συν. 2018).

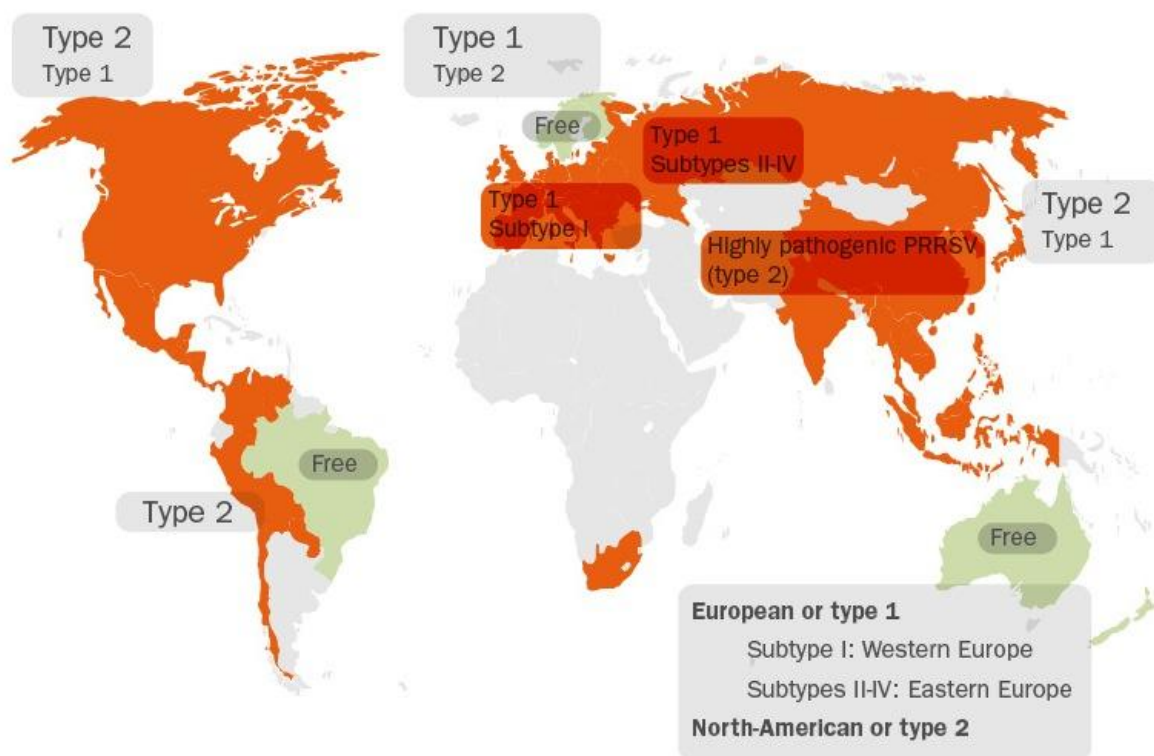
### **3. ΕΠΙΖΩΟΤΙΟΛΟΓΙΑ**

#### ***3.1. Γεωγραφική εξάπλωση του PRRSV***

Σήμερα, ο PRRSV παρουσιάζει παγκόσμια εξάπλωση. Στην Ευρώπη εντοπίζεται κυρίως ο τύπος 1, ωστόσο τα τελευταία χρόνια έχουν εντοπιστεί και στελέχη του τύπου 2 σε κράτη όπως η Γερμανία, η Αυστρία, η Δανία και η Πολωνία (Stadejek και συν. 2002, 2006, 2008, 2013). Πρόσφατα, μάλιστα, έγινε ανίχνευση και στην Ελλάδα στελέχους του τύπου 2 του ιού (Paratsiros και συν. 2020). Απαλλαγμένες της νόσου θεωρούνται η Ελβετία, η Νορβηγία, η Σουηδία και η Φινλανδία (Stadejek και συν. 2006, 2008, 2013) (Εικόνα 4).

Αναφορικά με την εξάπλωση του ιού στις υπόλοιπες ηπείρους, στην Αμερική εντοπίζεται κυρίως ο τύπος 2 που κυριαρχεί στις ΗΠΑ, τον Καναδά αλλά και τα περισσότερα κράτη της Ν. Αμερικής. Βέβαια, σε κάποιες περιπτώσεις έχει πραγματοποιηθεί ανίχνευση και στελεχών του τύπου 1 τόσο στις ΗΠΑ όσο και τον Καναδά. Στην Ασία, επίσης, κυριαρχούν στελέχη του τύπου 2, εκ των οποίων ορισμένα χαρακτηρίζονται ως υψηλής λοιμογόνου δύναμης (Stadejek και συν. 2006, 2008, 2013). Το καλοκαίρι του 2006, μάλιστα, εκδηλώθηκε στην Κίνα μεγάλη ενζωτία που οφειλόταν σε HP-PRRSV και ανήκαν στον τύπο 2 (Zhou και συν. 2008, Shi και συν. 2010). Σε ορισμένες περιπτώσεις έχουν εντοπιστεί και στελέχη του τύπου 1 σε χώρες της Ασίας. Τέλος, απαλλαγμένες από το σύνδρομο θεωρούνται η Βραζιλία, η Αργεντινή, η Κούβα, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία (Stadejek και συν. 2006, 2008, 2013) (Εικόνα 4).





**Εικόνα 4.** Γεωγραφική κατανομή των δύο γενοτύπων του ιού, PRRSV- 1 (*European or type 1*) και PRRSV- 2 (*North American or type 2*), καθώς και των υποτύπων τους (*Subtypes I, IHV και highly pathogenic PRRSV*). Επισημαίνονται οι χώρες που θεωρούνται απαλλαγμένες του ιού (*Free*). (Πηγή: *Laboratorios Hipra, Girona, Spain*).

### 3.2. Μετάδοση

Ο χοίρος μολύνεται από τον ιό του PRRS μέσω της στοματικής, της ρινικής και της γεννητικής οδού, ενώ ο ιός απεκκρίνεται μέσω του σιέλου, των ρινικών εκκρίσεων, των κοπράνων, του ούρου, του σπέρματος και του πρωτογάλακτος/γάλακτος (Benfield και συν. 1999, Magar και Larochelle 2004, Hall και συν. 2015, Pileri και συν. 2016, Zimmerman και συν. 2019). Από τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η φυσική μόλυνση, ο ιός επιβιώνει στο σιέλο και το ούρο για περισσότερες από 42 και 14 ημέρες αντίστοιχα (Wills και συν. 1997b, Pileri και συν. 2016, Zimmerman και συν. 2019). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ανίχνευση του ιού στο σπέρμα κάπρων 43 έως και 92 ημέρες μετά από πειραματική μόλυνση με τον ιό (Swenson και συν. 1994a, b, Kittawornrat και συν. 2010, Nathues και συν. 2014, Zimmerman και συν. 2012, 2019). Επίσης, ο ιός έχει απομονωθεί σε γάλα συών, οι οποίες είχαν μολυνθεί στο τελευταίο στάδιο της κνοφορίας τους (Benfield και συν.

1999, Kang και συν. 2010, Pileri και συν. 2016). Επιπροσθέτως, έχει διαπιστωθεί η απέκκριση του στα κόπρανα νεαρών χοιριδίων για περισσότερες από 35 ημέρες μετά τη μόλυνσή τους (Martinez-Lobo και συν. 2013, Pileri και συν. 2016). Απόρροια της απέκκρισης του ιού με το σίελο και το ούρο ενδέχεται να είναι η μόλυνση του περιβάλλοντος και συνεπώς η ακόλουθη μετάδοσή του σε άλλα ζώα (Benfield και συν. 1999, Hall και συν. 2015, Zimmerman και συν. 2019). Έχει αποδειχθεί ότι ο ιός είναι δυνατό να εισέλθει στο χοίρο και μέσω λύσεων συνεχείας του δέρματος που προκαλούνται από χειρισμούς ρουτίνας (π.χ. κοπή ουράς ή οδόντων, ενέσιμη χορήγηση κτηνιατρικών σκευασμάτων) ενώ η απέκκριση του ιού μέσω του σιέλου είναι πιθανό να οδηγήσει σε μόλυνση των ζώων μέσω τραυματισμών κατά τις μεταξύ τους διαμάχες (π.χ. δαγκωμάτα ουράς ή αυτιών) (Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Τέλος, η ελάχιστη μολυσματική δόση διαφέρει ανάλογα με την ηλικία του ζώου καθιστώντας τα νεαρότερα πιο επιρρεπή σε μολύνσεις (Hermann και συν. 2005).

### **3.3. Μετάδοση του ιού εντός της εκτροφής και από εκτροφή σε εκτροφή**

Ο ιός του PRRS μετά την αρχική του εμφάνιση σε μία εκτροφή και τη μόλυνσή της, είναι δυνατόν να μεταπέσει σε ενζωτική μορφή. Σημαντικό ρόλο στην παραμονή του στην εκτροφή έχουν τόσο η ύπαρξη χοίρων με εμμένουσα μόλυνση που αποτελούν φορείς του ιού, όσο και η ενδεχόμενη εισαγωγή μολυσμένων νεαρών συών αντικατάστασης και κάπρων. Ερευνητές διαπίστωσαν ότι ο ιός είναι δυνατό να μεταδοθεί σε οροαρνητικές σύς μέσω της επαφής τους με σύς φορείς του ιού έως και 86 ημέρες μετά τη μόλυνσή τους (Bierk και συν. 2001). Η μόλυνση των νεαρών συών αντικατάστασης αποτελεί σημαντικό παράγοντα επικινδυνότητας για ενζωτίες του ιού. Τα ζώα αυτά μπορεί να μολυνθούν από τον ιό είτε μετά τη γέννησή τους, είτε μετά την εφαρμογή τεχνητής σπερματέγχυσης με μολυσμένο από τον ιό σπέρμα (Wills και συν. 1997c, Kittawornrat και συν. 2010, Zimmerman και συν. 2012, Nathues και συν. 2014). Ακόμη, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις μετάδοσης του ιού του PRRS μέσω της χρήσης μολυσμένων βιολογικών υλικών, βελόνων ή μέσω μηχανικών φορέων αλλά και άλλων ειδών ζώων (πτηνά, τρωκτικά, έντομα) (Otake και συν. 2001). Στους μηχανικούς φορείς συμπεριλαμβάνονται διάφορα αντικείμενα εξοπλισμού (π.χ. εργαλεία, υποδήματα, είδη ρουχισμού), το εργατικό προσωπικό της εκτροφής και οι επισκέπτες (π.χ. κτηνίατροι) που δε μερμινούν για τη λήψη των απαραίτητων μέτρων βιοασφάλειας (Dee και συν. 1998, Mondaca-

Fernandez και συν. 2007, Hall και συν. 2015, Zimmerman και συν. 2019). Σε σχετική έρευνα διαπιστώθηκε ότι η είσοδος του ιού στο 56% των εκτροφών έγινε μέσω μολυσμένων χοίρων, στο 20% μέσω μολυσμένου σπέρματος κάπρων, στο 21% μέσω μηχανικών φορέων και στο 3% των εκτροφών με άγνωστο τρόπο. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι ο ιός, υπό μορφή αερολύματος, μπορεί να μεταδοθεί μεταξύ εκτροφών σε αποστάσεις μικρότερες των 500 μέτρων και σπανιότερα σε αποστάσεις μεγαλύτερες του ενός χιλιομέτρου (Le Potier και συν. 1997, Trincado και συν. 2004, Cho και συν. 2007, Hall και συν. 2015, Pileri και συν. 2016). Βέβαια, η επικράτηση ιδανικών συνθηκών περιβάλλοντος αναφορικά με τη θερμοκρασία, την υγρασία και τα ρεύματα αέρα είναι απαραίτητη για την αερογενή μετάδοση του ιού (Wills και συν. 1997a, Otake και συν. 2001, Trincado και συν. 2004).

Η εξάπλωση του ιού μέσα στην εκτροφή επιτυγχάνεται μέσω του συγχρωτισμού κλινικώς υγιών χοίρων με μολυσμένους χοίρους. Στην παραμονή του ιού σε μία εκτροφή μπορεί να συμβάλλουν: α) η κάθετη μετάδοσή του ιού από τη συ στα χοιρίδια είτε κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής τους (*in utero*, στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας) είτε κατά τις πρώτες ημέρες μετά τη γέννησή τους, με άμεση επαφή μέσω του πρωτογάλακτος και β) η ανάμιξη χοιριδίων από διαφορετικές τοκετομάδες κατά τη συγκρότηση των ομάδων στους θαλάμους απογαλακτισμού (Benfield και συν. 1999, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

## **4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

### **4.1. Μηχανισμός παθογένειας**

Την είσοδο του ιού στον οργανισμό ακολουθεί η εγκατάσταση και ο πολλαπλασιασμός του στα κύτταρα προσβολής που είναι τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα μακροφάγα άλλων ιστών και τα πρόδρομα σπερματογόνα κύτταρα των όρχεων (Wensvoort και συν. 1991, Rossow και συν. 1996a, Vlahos και Bozinovski 2014). Ακολούθως, τα προσβεβλημένα μακροφάγα διασπείρονται στον επιχώριο λεμφοειδή ιστό. Από εκεί και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος (η ιαιμία επέρχεται εντός 12-24 ωρών) διασπείρεται στους ευαίσθητους ιστούς. Διάφορα όργανα και ιστοί παρουσιάζουν ευαισθησία στον ιό π.χ. αμυγδαλές, θύμος αδένας, πνεύμονας, καρδιά, σπλήνας, ήπαρ, νεφροί και λεμφογάγγλια (Rossow και συν. 1996a, Snijder και συν. 2013, Zimmermann και συν. 2019).

Η εξέλιξη της μόλυνσης διακρίνεται σε τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο, κατά τη διάρκεια της αρχικής ιαιμίας, περιλαμβάνει τη μόλυνση των λεμφικών οργάνων. Χαρακτηρίζεται από τον ταχύ πολλαπλασιασμό των μολυσμένων μακροφάγων και η διάρκεια της είναι περίπου 7 ημέρες. Η δεύτερη φάση περιλαμβάνει, πρωτίστως, τη μόλυνση μικρού αριθμού κυψελιδικών μακροφάγων και ακολούθως, τη βραδεία εξάπλωσή της σε χρονικό διάστημα από 2 έως 3 εβδομάδες. Στο τέλος της φάσης αυτής, ένας μεγάλος αριθμός κυψελιδικών μακροφάγων είναι πλέον μολυσμένος, ενώ η προσβολή των λεμφικών ιστών από τον ιό περιορίζεται σε ένα μικρό αριθμό κυττάρων. Στην τρίτη φάση η μόλυνση εξελίσσεται με αργούς ρυθμούς και χαρακτηρίζεται από την περιορισμένη αντιτύπωση του ιού, όπου πλέον μολύνονται τα λεμφικά όργανα, οι αμυγδαλές και κυρίως οι πνεύμονες του ζώου (Beyer και συν. 2000).

Η εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων και αλλοιώσεων οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς δράσης του ιού. Συγκεκριμένα, προκαλεί αύξηση του ρυθμού νέκρωσης και απόπτωσης των κυττάρων των λεμφικών ιστών, των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων καθώς και των κυψελιδικών και ενδοαγγειακών μακροφάγων του πνεύμονα. Η απόπτωση, η οποία θεωρείται και η βασική αιτία για το θάνατο των κυττάρων που έχουν προσβληθεί από τον PRRSV, έχει αποδοθεί στην έκλυση των κυττοκινών από τα μολυσμένα μακροφάγα (Costers και συν. 2008, Vlahos και Bozinovski 2014, Fan και συν. 2019, Zimmerman και συν. 2019). Τα συγκεκριμένα μακροφάγα εκκρίνουν τον παράγοντα νέκρωσης όγκου-α (Tumor Necrosis Factor- alpha, TNF- a), την ιντερλευκίνη 1 (IL- 1) και την ιντερλευκίνη 6 (IL-6), με αποτέλεσμα την προσέλκυση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων καθώς την αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών (εμφάνιση πνευμονικού οιδήματος), προκαλώντας έτσι την εμφάνιση συμπτωμάτων όπως πυρετό, ανορεξία και λήθαργο (Zimmerman και συν. 2006), 2019. Επιπλέον, τα προσβεβλημένα μακροφάγα εμφανίζουν μειωμένη φαγοκυτταρική ικανότητα έναντι των βακτηρίων, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο την ευαισθησία των ζώων σε δευτερογενείς βακτηριακές και ιογενείς λοιμώξεις (Girayd και συν. 2001, Chen και συν. 2012, Wang και συν. 2017, Fan και συν. 2019).

## **4.2. Εμμένουσα μόλυνση**

Χαρακτηριστικό της παθογένειας του ιού είναι η ικανότητά του να προκαλεί εμμένουσα μόλυνση, ενώ μπορεί να προκαλέσει και αφανή λοίμωξη σε μεμονωμένους χοίρους μέσω της ικανότητάς του να αποφεύγει τους αμυντικούς μηχανισμούς του ζώου-ξενιστή. (Rossow και συν. 1996a, Beyer και συν. 2000, Brockmeier και συν. 2002). Η απέκκρισή του από τους χοίρους με εμμένουσα λοίμωξη μπορεί να πραγματοποιείται για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την οξεία φάση της μόλυνσης. Μελέτες έχουν αναφέρει την απομόνωση του ιού τόσο από σπέρμα κάπρων, που συλλέχθηκε την 92<sup>η</sup> ημέρα, μετά την πειραματική PRRSV τους μόλυνση, όσο και από αίμα σιών την 110<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας μετά τη μόλυνσή τους στην 85<sup>η</sup> -90<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας (Benfield και συν. 1999). Ακόμη, απομόνωση του ιού έχει αναφερθεί από αίμα χοιριδίων ηλικίας έως και 210 ημερών, τα οποία είχαν γεννηθεί από μολυσμένες σύες (Benfield και συν. 1997). Επιπλέον, ο ιός έχει απομονωθεί από βύσματα που συλλέχθηκαν από τη στοματική και φαρυγγική κοιλότητα έως και 157 ημέρες από τη χρονική στιγμή της μόλυνσης και μέχρι 134 ημέρες μετά την τελευταία ανίχνευσή του στο αίμα των χοίρων (Wills και συν. 1995). Συνεπώς, η επιβίωση και η μετάδοση του ιού μέσα στην εκτροφή, σε μεγάλο βαθμό, εξαρτάται από την παρουσία ζώων με εμμένουσα μόλυνση.

## **4.3. Μηχανισμοί παθογένειας του ιού**

### ***Σύες και έμβρυα***

Οι επιπτώσεις που μπορεί να προκαλέσει ο PRRSV στις κυοφορούσες σύες και μετέπειτα στα έμβρυα εξαρτάται από την ηλικία προσβολής των χοιρομητέρων. Συγκεκριμένα, η μόλυνση των σιών μεταξύ της 7<sup>ης</sup> και 21<sup>ης</sup> ημέρας της κυοφορίας δεν επιφέρει μεταβολή στις αναπαραγωγικές τους παραμέτρους (Prieto και συν. 1996a), ενώ όταν αυτή συμβαίνει μεταξύ 30<sup>ης</sup>-50<sup>ης</sup> ημέρας της κυοφορίας, η αναπαραγωγική εικόνα των ζώων επηρεάζεται αρνητικά. Ειδικότερα, παρατηρούνται αύξηση του ποσοστού επιστροφών σε οίστρο, αποβολές στο τελευταίο τρίτο της κυοφορίας, πρόωροι τοκετοί (107<sup>η</sup>-112<sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας) και γέννηση νεκρών, θνησιγενών, μουμιοποιημένων και αδύναμων χοιριδίων (Lager και συν. 1997). Ωστόσο, σύμφωνα με άλλες μελέτες, διαπιστώθηκε μείωση γονιμότητας ακόμα και όταν η μόλυνση συνέβη πριν την 21<sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας (Christianson και συν. 1993). Στο τελευταίο τρίτο της κυοφορίας, ο PRRSV έχει την ικανότητα να διαπερνά τον

χοίρειο πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα και τα γεννηθέντα χοιρίδια είναι δυνατόν να απεκκρίνουν τον ιό μέχρι και 250 ημέρες μετά (Lager και συν. 1998). Οι Karniychuk και Nauwynck (2013) περιέγραψαν λεπτομερώς τον μηχανισμό μέσω του οποίου ο ιός μπορεί να προκαλέσει διαπλακουντική μόλυνση στα έμβρυα. Γενικά, ο ενδοθηλιακός χοίρειος πλακούντας παρουσιάζει μία ιδιαίτερα πολύπλοκη δομή, λειτουργώντας σαν ένας σταθερός φραγμός, που εμποδίζει ακόμα και την είσοδο των μητρικών αντισωμάτων στα έμβρυα (Navarro και συν. 2001, Guzman- Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021). Δεδομένου του σημαντικά μεγαλύτερου μεγέθους του γονιδιώματος του ιού (50-65 nm) σε σχέση με αυτό των μητρικών αντισωμάτων (12 nm), εύλογα συμπεραίνεται ο υψηλός βαθμός δυσκολίας του ιού να διαπεράσει τον πλακούντα και να μεταδοθεί στα εμβρυϊκά χοιρίδια (Karniychuk και Nauwynck 2013). Σημαντικό ρόλο στην πρόκληση της κάθετης μόλυνσης έχουν τα μακροφάγα  $Sn^+$  και  $CD163^+$  λόγω του τροπισμού που παρουσιάζει ο ιός προς αυτά (Van Gorp και συν. 2008, Karniychuk και Nauwynck 2013). Τα συγκεκριμένα μακροφάγα εντοπίζονται στο ενδομήτριο και τον πλακούντα και μέσω της σύνδεσής του με αυτά, ο ιός έχει την ικανότητα να διαπερνά τον πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα. Στη συνέχεια της μελέτης τους, οι Karniychuk και Nauwynck (2013) προσδιόρισαν τη συγκέντρωση των  $Sn^+$  και  $CD163^+$  μακροφάγων στο ενδομήτριο και στον πλακούντα στα διάφορα στάδια της κυοφορίας των σιών. Διαπίστωσαν ότι τα μακροφάγα αυτά εντοπίζονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις πριν από την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας. Αντίθετα, μετά την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας, οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται κατακόρυφα, γεγονός που εξηγεί την κάθετη μόλυνση που μπορεί να προκαλέσει ο ιός κατά το τελευταίο τρίτο της κυοφορίας.

### ***Κάπροι***

Ο ιός εντοπίζεται στους όρχεις των κάπρων, μολύνει το σπερματικό επιθήλιο και πολλαπλασιάζεται στα σπερματοκύτταρα των σπερματικών σωληναρίων, προκαλώντας τον θάνατό τους. Συνέπεια των παραπάνω, είναι οι αρνητικές επιπτώσεις της μόλυνσης των κάπρων από τον ιό στα χαρακτηριστικά του σπέρματος προκαλώντας μείωση της κινητικότητας και της ζωτικότητας των σπερματοζωαρίων καθώς και αύξηση του αριθμού αυτών με μορφολογικές ανωμαλίες (Sur και συν. 1997). Η μόλυνση των κάπρων από τον PRRSV διακρίνεται σε τρία στάδια. Αρχικά, συνήθως 9

ημέρες μετά τη μόλυνση, τα ζώα εμφανίζουν ιαιμία και απεκκρίνουν τον ιό, αλλά είναι ακόμη οροαρνητικά. Στο ενδιάμεσο στάδιο, 9 με 35 ημέρες μετά τη μόλυνση, οι κάπροι παρουσιάζουν ιαιμία, ωστόσο είναι οροθετικοί και απεκκρίνουν τον ιό μεταξύ της 15<sup>ης</sup>-35<sup>ης</sup> ημέρας μετά τη μόλυνση. Στο τελευταίο στάδιο, την 35<sup>η</sup> ημέρα μετά τη μόλυνση, δεν παρατηρείται ιαιμία στους κάπρους, ο ιός εξαφανίζεται από το σπέρμα και ξεκινά η παραγωγή των εξουδετερωτικών αντισωμάτων (Christopher-Hennings 2002).

Οι κάπροι με εμμένουσα λοίμωξη μπορούν να μεταδώσουν τον ιό μέσω της επαφής, προκαλώντας την παραγωγή αντισωμάτων σε σύς (Prieto και συν. 2003). Επιπρόσθετα, η μετάδοση του ιού μέσω του σπέρματος είναι πιθανόν να οφείλεται στη μετανάστευση των μολυσμένων μακροφάγων/μονοκυττάρων από τη λεμφική/αιματική κυκλοφορία σε διάφορα όργανα και ιστούς του γεννητικού συστήματος, με συνέπεια αρνητικές επιπτώσεις στα χαρακτηριστικά του σπέρματος (Prieto και Castro 2005).

## **5. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ**

### ***5.1. Έμφυτη ανοσία***

Γενικά, λοιμώξεις που οφείλονται σε RNA ιούς προκαλούν την απελευθέρωση των ιντερφερονών  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) και  $\beta$  (IFN $\beta$ ), οι οποίες έχουν αντιϊκή δράση. Ακόμη, στις αναπνευστικές λοιμώξεις από RNA ιούς πυροδοτείται και η παραγωγή κυτταροκινών φλεγμονής, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (Tumor Necrosis Factor, TNF) και η ιντερλευκίνη 1 (IL-1). Οι κυτταροκίνες αυτές έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της αρχικής ανοσολογικής απάντησης των προσβεβλημένων ζώων. Παρόλα αυτά, σε διάφορα περιστατικά μόλυνσης από τον PRRSV δεν ανιχνεύθηκε ούτε η παραγωγή των IFN $\alpha$  και IFN $\beta$ , ούτε και των κυτταροκινών φλεγμονής (Tizard 1995, 2016, Vicek και Sen 1996). Σχετικές έρευνες έδειξαν ότι ο ιός μπορεί να αναστέλλει τη λειτουργία των IFN $\alpha$  και IFN $\beta$  και να παρεμποδίζει την παραγωγή των TNF και IL-1 (Chiou και συν. 2000, Lopez-Fuertes και συν. 2000).

## 5.2. Χυμική ανοσία

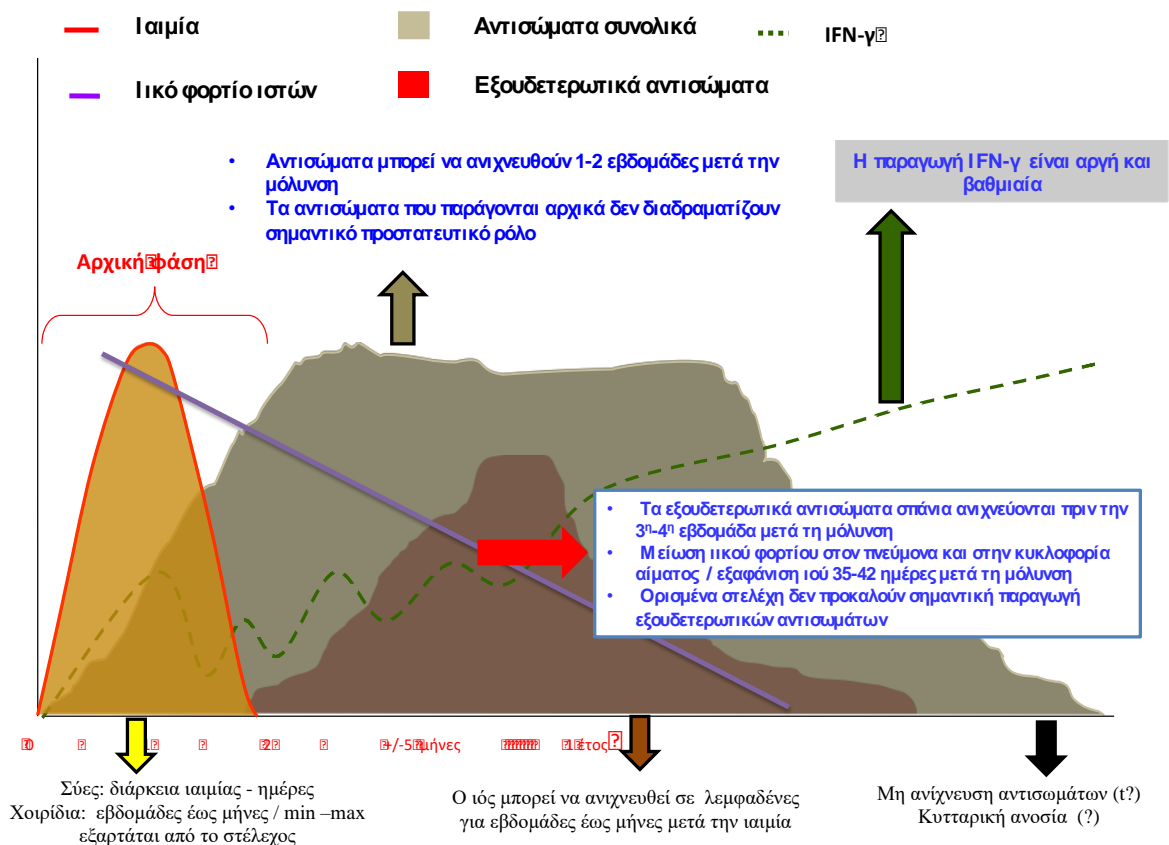
Η ανίχνευση της χυμικής ανοσίας είναι δυνατή 7 έως 10 ημέρες από τη στιγμή της μόλυνσης (Nielsen και Bøtner 1997, Dea και συν. 2000, Navarro και συν. 2001, Bandrick και συν. 2014). Ειδικότερα, η εμφάνιση των ανοσοσφαιρινών IgM στον ορό του αίματος συμβαίνει 5-7 ημέρες μετά τη μόλυνση και σε διάστημα 2-3 εβδομάδων μειώνονται γρήγορα σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Οι ανοσοσφαιρίνες IgG ανιχνεύονται 7-10 ημέρες μετά τη μόλυνση, φθάνουν στο μέγιστο σε 2-4 εβδομάδες, δε μεταβάλλονται για μήνες και στη συνέχεια 300 ημέρες μετά την αρχική μόλυνση παρουσιάζουν μεγάλη μείωση (Yoon και συν. 1995, Nielsen και Bøtner 1997, Navarro και συν. 2001, Labarque και συν. 2003). Αναφορικά με τις IgA, είναι δυνατό να εντοπιστούν στον ορό του αίματος την 14<sup>η</sup> ημέρα, μεγιστοποιούνται την 25<sup>η</sup> ημέρα και παραμένουν ανιχνεύσιμες μέχρι την 35<sup>η</sup> ημέρα, αντίστοιχα, μετά τη μόλυνση (Nielsen και Bøtner 1997). Οι Pastoret και συν. (1998) ανίχνευσαν αντισώματα, κυρίως IgG και στο πρωτόγαλα των συών και μάλιστα σε συγκεντρώσεις που πολλές φορές υπερέβαιναν τις αντίστοιχες των αντισωμάτων στον ορό αίματος των συών. Οι IgG του πρωτογάλακτος απορροφώνται από το νεογέννητο χοιρίδιο τις πρώτες 24-48 ώρες μετά τη γέννησή του και τα μητρικά αντισώματα ανευρίσκονται σε αυτό έως και μετά την 6<sup>η</sup>-8<sup>η</sup> εβδομάδα της ηλικίας του (Guzman- Batista και συν.2013, Butler και συν. 2014, Hsueh και συν. 2021).

Τα εξουδετερωτικά αντισώματα κατά του ιού που παράγονται από την 2<sup>η</sup>-3<sup>η</sup> εβδομάδα, 14-21 ημέρες περίπου μετά τη μόλυνση (Εικόνα 5), παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα, ακόμα και αν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Yoon και συν. 1995, Navarro και συν. 2001, Labarque και συν. 2003). Η εμφάνισή τους σχετίζεται με τη μείωση της παρουσίας του ιού στους πνεύμονες και το περιφερικό αίμα και τελικά με την εξαφάνισή του από την αιματική κυκλοφορία, σε διάστημα 35-42 ημερών μετά τη μόλυνση. Αντισώματα κατά της πρωτεΐνης N βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις και η παρουσία τους διαπιστώνεται με τις διάφορες ορολογικές δοκιμές. Τα συγκεκριμένα αντισώματα μπορεί να ανιχνευθούν την 1<sup>η</sup> εβδομάδα μετά τη μόλυνση, όμως δεν είναι εξουδετερωτικά. Τα εξουδετερωτικά αντισώματα παράγονται κατά των γλυκοπρωτεϊνών GP4 και GP5 και της πρωτεΐνης M (Murtaugh 2004). Αντισώματα κατά της M πρωτεΐνης είναι δυνατόν να



εντοπιστούν στο τέλος της 2<sup>ης</sup> εβδομάδας, ενώ αντισώματα κατά της GP5 από την 1<sup>η</sup> εβδομάδα μετά τη μόλυνση (Dea και συν. 2000).

Η χυμική ανοσία συμβάλλει σημαντικά στην αποτροπή ενδεχόμενης επαναμόλυνσης καθώς και στην αποτροπή ή τη μείωση της διασποράς του ιού μεταξύ των ζώων. Τα εξουδετερωτικά αντισώματα παρέχουν δυνατότητα εξάλειψης του ιού από την αιματική κυκλοφορία (Yoon και συν. 1995, Navarro και συν. 2001, Brockmeier και συν. 2002, Labarque και συν. 2003, Bandrick και συν. 2014).

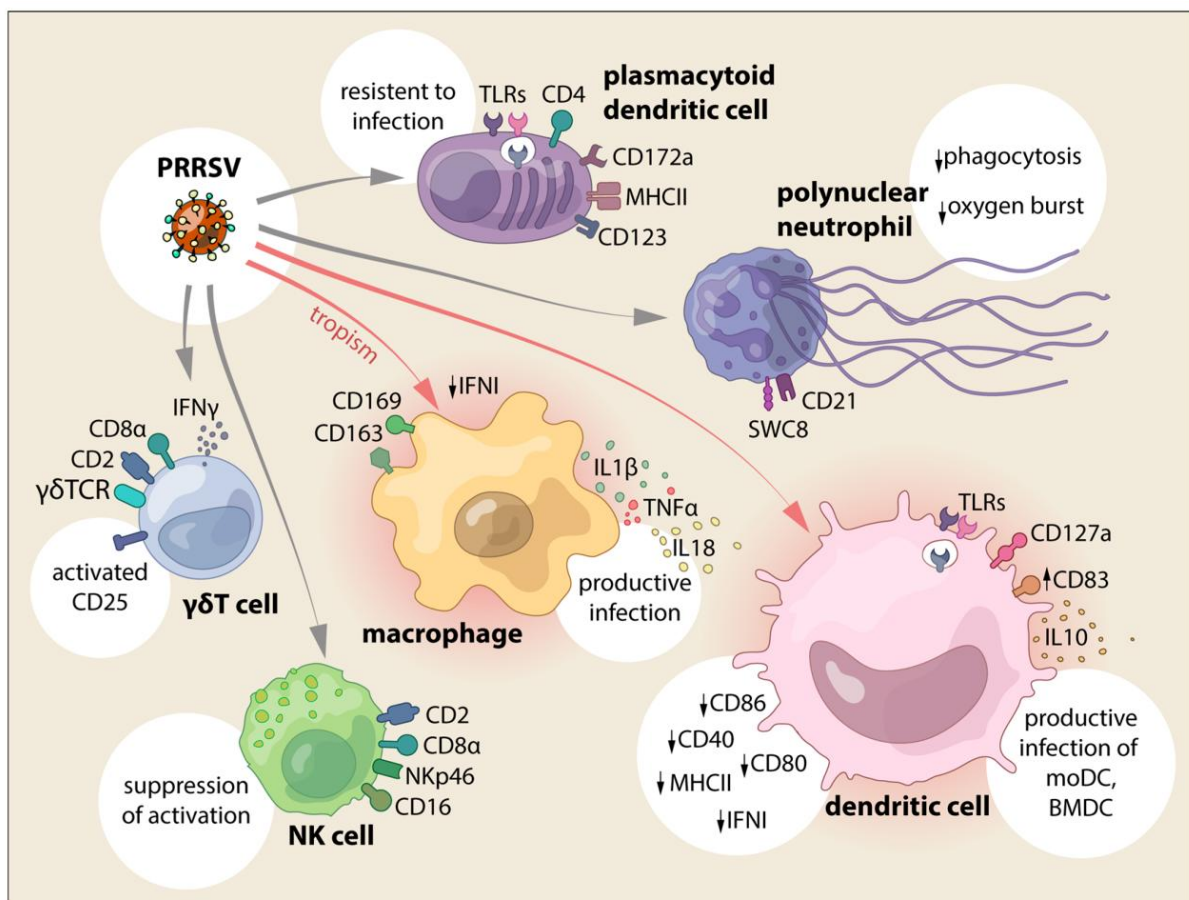


**Εικόνα 5.** Χρονική αλληλουχία εκδήλωσης χυμικής ανοσολογικής απόκρισης συός σε περιστατικό μόλυνσης από τον PRRSV. (Πηγή: Τροποποίηση από Lopez και Osorio 2004).

### 5.3. Κυτταρική ανοσία

Η παραγωγή των T λεμφοκυττάρων προκαλείται από όλες τις πρωτεΐνες του ιού και μεταβάλλεται ανάλογα με το στάδιο της ιαιμίας. Συγκεκριμένα, η M πρωτεΐνη προκαλεί αυξημένη παραγωγή T λεμφοκυττάρων ενώ οι GP5, GP3, GP2 και κυρίως, η N πρωτεΐνη προκαλούν την παραγωγή μικρότερων συγκεντρώσεων. Η αντίδραση των T λεμφοκυττάρων κατά του PRRSV διαφέρει ανάλογα με το στάδιο της ιαιμίας. Αρχικά, τα T λεμφοκύτταρα εντοπίζονται σε μικρές

συγκεκριμένες, οι οποίες όμως με την πάροδο του χρόνου από την αρχική μόλυνση, αυξάνονται σταθερά (Bautista και συν. 1999, Meier και συν. 2003). Η αξιολόγηση της κυτταρολογικής ανοσολογικής απάντησης που ακολουθεί την αρχική μόλυνση γίνεται με τον προσδιορισμό της παραγωγής ειδικής ιντερφερόνης  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) κατά του ιού (Meier και συν. 2003). Η IFN $\gamma$  παρεμποδίζει τη σύνθεση του RNA του ιού με αποτέλεσμα να αναστέλλει την αντιτύπωσή του. Η παραγωγή της έχει εντοπιστεί σε λεμφογάγγλια μολυσμένων χοίρων, αλλά κυρίως στους πνεύμονες, όπου είναι ιδιαίτερα αυξημένη και παράγεται στα T λεμφοκύτταρα και τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK) (Crisci και συν. 2019 - Εικόνα 6). Συνέπεια των υψηλών συγκεντρώσεων της IFN $\gamma$  στους πνεύμονες είναι να εμποδίζεται η αντιτύπωση του ιού σε αυτούς και για αυτό υποστηρίζεται ότι η παραγωγή της IFN $\gamma$  συμβάλλει στον έλεγχο του συνδρόμου (Lopez και Osorio 2004 - Εικόνα 5) (Bautista και συν. 1999, Rowland και συν. 2001). Σε νεαρές σύς η IFN $\gamma$  εντοπίζεται 14-120 ημέρες μετά την πειραματική μόλυνσή τους (Batista και συν. 2004).



**Εικόνα 6.** Αλληλεπιδράσεις του ιού του PRRSV με τα δενδριτικά (dendritic), ουδετερόφιλα (neutrophil), μακροφάγα (macrophage), «φονικά» (NK, Natural Killer) και  $\gamma\delta T$  κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος του χοίρου. (Πηγή: Crisci και συν. 2019)

## **6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ**

### **6.1. Κλινικές μορφές**

Η κλινική εκδήλωση του PRRS σε επίπεδο εκτροφής ποικίλλει σημαντικά και εξαρτάται από τους εξής παράγοντες: α) το στέλεχος του ιού, β) τον ενδεχόμενο ανασυνδυασμό στελεχών του ιού, γ) την ανοσολογική κατάσταση των ζώων, δ) τις περιβαλλοντικές συνθήκες, ε) τη συνύπαρξη βακτηριακών ή άλλων ιογενών νοσημάτων και στ) το πρόγραμμα της κτηνιατρικής διαχείρισης της εκτροφής (Wensvoort 1993, Halbur και Bush 1997, Cano και συν. 2009).

Τα στελέχη υψηλής λοιμογόνου δύναμης είναι υπεύθυνα για την πρόκληση σοβαρής κλινικής νόσου, η οποία μπορεί να χαρακτηρίζεται από αναπνευστικά και αναπαραγωγικά προβλήματα, ενώ τα χαμηλής λοιμογόνου δύναμης προκαλούν υποκλινική (χωρίς την εμφάνιση συμπτωμάτων), επιζωοτική (εμφάνιση συμπτωμάτων σε μεγάλο μέρος του πλυθισμού) ή ενζωοτική νόσο (εμφάνιση συμπτωμάτων σε μικρό μέρος του πλυθισμού) (Blaaha 2000).

#### **6.1.1 Επιζωοτική μορφή του PRRS**

Η επιζωοτική μορφή του συνδρόμου χαρακτηρίζεται από την ευρεία και ταχεία εξάπλωση του ιού μέσα στην εκτροφή. Ειδικότερα, η νόσος μπορεί να ξεκινήσει από ένα ή περισσότερα παραγωγικά στάδια και σε χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων να έχει εξαπλωθεί σε όλα τα στάδια παραγωγής (Blaaha 2000). Αρχικά, εκδηλώνεται με την εμφάνιση αιμίας και συνήθως ακολουθείται από ανορεξία, ληθαργικότητα και αύξηση της θερμοκρασίας (από 39 ως 41°C). Επιπρόσθετα, στην κλινική εικόνα των μολυσμένων σιών περιλαμβάνονται, συχνά και διάφορα αναπαραγωγικά προβλήματα, ενώ οι απογαλακτισμένοι και αναπτυσσόμενοι χοίροι παρουσιάζουν, συνήθως και συμπτώματα από το αναπνευστικό σύστημα (Halbur και Bush 1997, Cano και συν. 2009). Σε ορισμένες μελέτες έχει αναφερθεί και υπεραιμία του δέρματος και κυάνωση στο ρύγχος, τα αυτιά, τους μαστούς, το αιδόιο και τα άκρα των ζώων (Blaaha 2000). Σύμφωνα με τον Benfield και συν. (1999) σε εκτροφές μεγάλης δυναμικότητας ο ιός έχει μεγαλύτερες πιθανότητες να μεταδοθεί και συνεπώς περισσότερες πιθανότητες να προκαλέσει επιζωοτία.

### **6.1.2 Ενζωοτική μορφή του PRRS**

Σε εκτροφές απαλλαγμένες από τη νόσο, η ενζωοτική μορφή του συνδρόμου παρουσιάζει οξεία κλινική εικόνα και μπορεί να προσβληθούν χοίροι κάθε ηλικίας (Benfield και συν. 1999). Τα ζώα εμφανίζουν κατάπτωση, πυρετό και δύσπνοια. Οι νεαρές σύες και οι κάπροι αντικατάστασης είναι περισσότεροι ευαίσθητοι στη μόλυνση και εκδηλώνουν αναπαραγωγικά προβλήματα. Συγκεκριμένα, σε διάφορα κλινικά περιστατικά νόσησης σε σύς έχουν αναφερθεί αποβολές, πρόωροι τοκετοί, ακανόνιστες επιστροφές σε οίστρο και μειωμένη γονιμότητα (Dee 1996, Halbur και Bush 1997, Cano και συν. 2009).

Το χαρακτηριστικό της ενζωοτικής μορφής της νόσου είναι η παραμονή του ιού για αρκετά χρόνια στις μολυσμένες εκτροφές. Σημαντικό ρόλο για το γεγονός αυτό έχουν: η απέκκριση του ιού από περιορισμένο αριθμό ζώων, η εισαγωγή μολυσμένων ζώων αναπαραγωγής και ο διαρκής πολλαπλασιασμός του ιού σε απογαλακτισμένους ή/και αναπτυσσόμενους χοίρους (Wills και συν. 1995, Benfield και συν. 1997). Ένα ακόμη χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης κλινικής μορφής του συνδρόμου είναι οι συνεχείς εξάρσεις και υφέσεις στην εκδήλωσή του. Αυτό μπορεί να οφείλεται: α) στους μολυσμένους χοίρους που μπορεί να μολύνουν τους οροαρνητικούς και λόγω της συνεχούς ροής των ζώων στην εκτροφή η λοίμωξη να παρουσιάζεται μόνο σε ένα μέρος του πληθυσμού σε κάθε θάλαμο, και β) στα χοιρίδια που μολύνονται κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής τους, γεννιούνται ιαμικά και μεταδίδουν τον ιό σε άλλα υγιή ζώα (Benfield και συν. 1999).

## **6.2. Κλινικά συμπτώματα**

### **6.2.1. Θηλάζοντα χοιρίδια**

Τόσο τα χοιρίδια που γεννιούνται με μειωμένο, όσο και αυτά με φυσιολογικό σωματικό βάρος (>0,8 Kg/χοιρίδιο) παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (περίπου 60%) τους τέσσερις πρώτους μήνες μετά την εμφάνιση της λοίμωξης ενώ η συντριπτική πλειοψηφία των αδύναμων χοιριδίων πεθαίνουν λίγες ώρες μετά τη γέννησή τους. Γενικά, τα επίπεδα θνησιμότητας των γαλουχούμενων χοιριδίων είναι μεγαλύτερα την 1<sup>η</sup> εβδομάδα της ζωής τους, αλλά είναι δυνατόν να συνεχιστούν έως και το στάδιο του απογαλακτισμού. Αυτό εξηγείται από τη δυσκολία που παρουσιάζουν τα αδύναμα χοιρίδια να κατευθυνθούν προς τους μαστούς της χοιρομητέρας, με

συνέπεια να αδυνατούν να θηλάσουν ή να λαμβάνουν μη επαρκή ποσότητα πρωτογάλακτος. Έτσι, είναι πιθανόν να εμφανίσουν υπογλυκαιμία και αυξημένη προδιάθεση σε δευτερογενείς βακτηριακές και ιογενείς λοιμώξεις. Σε αυτό μπορεί να συμβάλλει και η εμφάνιση του συνδρόμου της επιλόχειας υπογαλαξίας/δυσγαλαξίας σε μολυσμένες από τον ιό σύς. Μετά την ηλικία των 4 εβδομάδων, τα μη μολυσμένα χοιρίδια που έλαβαν επαρκείς ποσότητες πρωτογάλακτος, μπορεί να νοσήσουν εκδηλώνοντας την αναπνευστική μορφή του συνδρόμου, λόγω της περιορισμένης πλέον δράσης των μητρικών αντισωμάτων (Dee και συν. 1996, Halbur και Bush 1997, Benfield και συν. 1999, Cano και συν. 2009).

Στα συμπτώματα που ενδεχομένως εμφανίσουν τα θηλάζοντα χοιρίδια περιλαμβάνονται: απώλεια σωματικού βάρους έως απίσχναση, ατονία, απαγωγή των άκρων (splay-leg), δύσπνοια έως κοπιώδης αναπνοή και εκχυμώσεις (Keffaber 1989, Halbur και Bush 1997, Cano και συν. 2009). Επιπλέον, έχουν αναφερθεί περιστατικά μολυσμένων χοιριδίων με εξοίδηση του επιπεφυκότα και των βλεφάρων (Keffaber 1989, White 1992a).

### **6.2.2. Απογαλακτισμένα χοιρίδια - αναπτυσσόμενοι/παχυνόμενοι χοίροι**

Οι απογαλακτισμένοι και αναπτυσσόμενοι/παχυνόμενοι χοίροι που προσβάλλονται από τον ιό παρουσιάζουν συμπτώματα κυρίως από το αναπνευστικό σύστημα. Σε κλινικά περιστατικά του συνδρόμου δίχως επιπλοκή τους από δευτερογενείς λοιμώξεις, τα ζώα έχουν ήπια κλινική εικόνα που χαρακτηρίζεται από ανορεξία, κακή όψη τριχώματος και καθυστέρηση της ανάπτυξης. Στην οξεία μορφή του συνδρόμου τα ζώα εμφανίζουν ανορεξία, ληθαργικότητα, κοπιώδη αναπνοή, δύσπνοια και υπεραιμία του δέρματος ή κυάνωση (αυτιά, ρύγχος, βουβωνική χώρα, άκρα). Επιπρόσθετα, τα νοσούντα ζώα παρουσιάζουν μειωμένη Μέση Ημερήσια Αύξηση (Μ.Η.Α.) και αυξημένο Δείκτη Μετατρεψιμότητας (Δ.Μ.). Ως εκ τούτου παρατηρείται ανομοιομορφία μεταξύ των ζώων στις ομάδες των θαλάμων απογαλακτισμού, προπάχυνσης και πάχυνσης (White 1992b, Zimmerman και συν. 1997, 2006, 2012).

Πολλές έρευνες έχουν συσχετίσει την παρουσία του PRRS με την έξαρση άλλων νοσημάτων, που πιθανώς ενζωοτούν στην εκτροφή, με συνέπεια αύξηση του ποσοστού θνησιμότητας έως και το 20% στους απογαλακτισμένους και τους αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους. Στα νοσήματα

αυτά περιλαμβάνονται η στρεπτοκοκκική μηνιγγίτιδα (*Streptococcus suis*), η νόσος του Glässer (*Glaesserella parasuis*), η πλευροπνευμονία (*Actinobacillus pleuropneumoniae*), η ατροφική ρινίτιδα (*Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*), η υπερπλαστική εντεροπάθεια (*Lawsonia intracellularis*) και η δυσεντερία (*Brachyspira hyodysenteriae*). Οι αρνητικές επιπτώσεις της ταυτόχρονης μόλυνσης της εκτροφής από τον PRRSV με κάποιο από τα παραπάνω νοσήματα είναι μεγαλύτερες στις εκτροφές όπου υπάρχει ελλιπής κτηνιατρική διαχείριση και δεν τηρούνται τα απαιτούμενα μέτρα βιοασφάλειας και υγιεινής (Keffaber και συν. 1992, White 1992a, Halbur και Bush 1997, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

### 6.2.3. Σύες

Η συμπτωματολογία των προσβεβλημένων συών περιλαμβάνει την εμφάνιση ανορεξίας, ληθαργικότητας, κατάπτωσης, βήχα, παρμού και άνοδο της θερμοκρασίας. Επιπλέον, μπορεί να εντοπιστεί, παροδικά, υπεραιμία ή κυάνωση σε διάφορα σημεία του δέρματός (συχνότερα στο ρύγχος, τα αυτιά, το αιδοίο, τους μαστούς, τη βουβωνική χώρα ή τα άκρα). Επιπρόσθετα, οι μολυσμένες σύες παρουσιάζουν και αναπαραγωγικά προβλήματα, όπως: πρόωρους τοκετούς (διάρκεια κυοφορίας <113 ημερών), αποβολές τελευταίου σταδίου, επιστροφές σε οίστρο, γέννηση μη φυσιολογικών τοκετοομάδων (αυξημένα ποσοστά αδύναμων, θνησιγενών και μουμιοποιημένων χοιριδίων) (Keffaber 1989, Halbur και Bush 1997, Benfield και συν. 1999, Cano και συν. 2009, Zimmerman και συν. 2012, 2019). Ως επιπλοκές των αποβολών έχουν περιγραφεί και νευρικά συμπτώματα στις σύς, όπως αταξία, μη συντονισμένες κινήσεις και κατάκλιση (Halbur και Bush 1997, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Σε ορισμένα περιστατικά οι σύες εμφάνισαν το σύνδρομο επιλόχειας υπογαλαξίας/δυσγαλαξίας λόγω του ιού (Hopper και συν. 1992). Επίσης, είναι πιθανή η έξαρση ενζωτικών νοσημάτων της εκτροφής όπως (ατροφική ρινίτιδα και κυστίτιδα/πυελονεφρίτιδα) (White 1992a). Τέλος, έχουν παρατηρηθεί και έντονα αναπνευστικά συμπτώματα με επακόλουθο ξαφνικούς θανάτους (Halbur και Bush 1997). Τα ποσοστά θνησιμότητας στις σύς ανέρχονται στο 1-4% (Benfield και συν. 1999, Cano και συν. 2009).

#### **6.2.4. Κάπροι**

Οι κάπροι, αν και παρουσιάζουν συνήθως υποκλινική λοίμωξη, μπορούν να διασπείρουν τον ιό μέσω του μολυσμένου σπέρματος. Ο PRRSV επιδρά αρνητικά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σπέρματος, προκαλώντας μείωση κινητικότητας και ζωτικότητας των σπερματοζωαρίων, καθώς και αύξηση του ποσοστού τους με μορφολογικές ανωμαλίες. Σε κλινικά περιστατικά με οξεία μορφή του συνδρόμου σε κάπρους, τα συμπτώματα περιελάμβαναν ανορεξία, λήθαργο, άνοδο της θερμοκρασίας, αναπνευστικά συμπτώματα, μειωμένη διάθεση για σύζευξη και οίδημα στα βλέφαρα, τους όρχεις ή και τα αυτιά (Prieto και συν. 1996a,b, Christopher-Henninigs και συν. 1997, Zimmerman και συν. 1997, 2006, 2012, 2019).

### **7. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ**

#### **7.1. Έμβρυα**

Εστιακή ή διάχυτη αιμορραγία κατά μήκος του ομφάλιου λώρου αποτελεί τη συνηθέστερη μακροσκοπική αλλοίωση των προσβεβλημένων από τον ιό εμβρύων. Ακόμη, οι μολυσμένες τοκετοομάδες είναι πιθανό να περιλαμβάνουν: α) έμβρυα που έχουν πεθάνει ενδομητριάια και παρουσιάζουν αυτόλυση και β) έμβρυα που περιβάλλονται από ένα κολλώδες μείγμα μηκωνίου, αίματος και αμνιακού υγρού. Μικροσκοπικά, τα έμβρυα εμφανίζουν διάμεση πνευμονία. Ωστόσο, οι παραπάνω αλλοιώσεις δεν παρατηρούνται πάντοτε και δε θεωρούνται παθογνωμικές της νόσου (Rossow 1998, Benfield και συν. 1999, Wang και συν. 2017, Zimmerman και συν. 2019).

#### **7.2. Νεογέννητα χοιρίδια**

Οι αλλοιώσεις των νεογέννητων χοιριδίων λόγω του ιού του PRRS εντοπίζονται κυρίως στους πνεύμονες. Ειδικότερα, εμφανίζουν διογκωμένους, σκουρόχρωμους και εμφυσηματικούς πνεύμονες, ενώ η έκταση των αλλοιώσεων μπορεί να φτάνει μέχρι και το 100% της επιφάνειας των πνευμόνων (Halbur και Bush 1997, Rossow και συν. 1998). Επίσης, είναι δυνατόν να εμφανίσουν διογκωμένα και σκουρόχρωμα βουβωνικά, θωρακικά και αυχενικά λεμφογάγγλια. Οίδημα, αιμορραγία και νέκρωση του ομφάλιου λώρου έχουν αναφερθεί σε μολυσμένα νεογέννητα χοιρίδια (Halbur και Bush 1997, Rossow 1998, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

Στη μικροσκοπική εξέταση των πνευμόνων παρατηρείται μέτριου έως σοβαρού βαθμού διάμεση πολυεστιακή πνευμονία (Wang και συν. 2017, Fan 2019).

### **7.3. Απογαλακτισμένα χοιρίδια**

Οι απογαλακτισμένοι χοίροι εμφανίζουν διογκωμένους, σκουρόχρωμους και εμφυσηματικούς πνεύμονες. Άλλου είδους αλλοιώσεις που μπορεί να εμφανίσουν είναι εκχυμώσεις και αυξημένες συγκεντρώσεις υγρού στη θωρακοκοιλιακή κοιλότητα καθώς και το περικάρδιο (Rossow 1998, Benfield και συν. 1999, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

Στη μικροσκοπική εξέταση των πνευμόνων παρατηρείται διάμεση πολυεστιακή πνευμονία, ωστόσο όχι τόσο έντονη όσο στα νεογέννητα χοιρίδια (Wang και συν. 2017, Fan 2019).

### **7.4. Αναπτυσσόμενοι/παχυνόμενοι χοίροι**

Οι προσβεβλημένοι χοίροι αυτής της ηλικίας παρουσιάζουν παρόμοια παθολογοανατομικά ευρήματα με αυτά των απογαλακτισμένων χοίρων. Ωστόσο, λόγω των συχνών δευτερογενών λοιμώξεων, οι πνευμονικές αλλοιώσεις επιπλέκονται από τις προκαλούμενες από τους συνυπάρχοντες παθογόνους μικροοργανισμούς (Rossow 1998, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Σε περιστατικά ταυτόχρονης μόλυνσης από τον PRRSV, το *Mycoplasma hyopneumoniae*, την *Pasteurella multocida* και τον ιό της γρίπης παρατηρήθηκε πύκνωση του πνεύμονα στο 30-70% της έκτασής του, αλλά και διάσπαρτες αλλοιώσεις σκοτεινέρυθρου χρώματος σε αυτούς (Benfield και συν. 1999, Girayd και συν. 2001, Chen και συν. 2012). Σε κλινικά περιστατικά ταυτόχρονης μόλυνσης από τον PRRSV και το *Mycoplasma hyopneumoniae* έχει αναφερθεί η παρουσία εξιδρώματος στους αεραγωγούς και σαφής διαχωρισμός μεταξύ των προσβεβλημένων και των υγιών τμημάτων του πνεύμονα (Benfield και συν. 1999).

Κύρια μικροσκοπική αλλοίωση που εντοπίζεται στους πνεύμονες είναι η διάμεση πνευμονία, η οποία μπορεί να συνοδεύεται από βρογχοπνευμονία στις περιπτώσεις που οι χοίροι εμφανίζουν επιπλεγμένη πνευμονία (Wang και συν. 2017, Fan 2019).



### 7.5. Σύες

Οι προσβεβλημένες σύες δεν παρουσιάζουν κάποια ιδιαίτερη μακροσκοπική ή μικροσκοπική αλλοίωση. Σε ορισμένα κλινικά περιστατικά αποβολών, η μικροσκοπική εξέταση της μήτρας, αποκάλυψε οίδημα στο ενδομήτριο, ενδομητρίτιδα και μυομητρίτιδα (Lager και Halbur 1996, Zimmerman και συν. 1997, 2006, 2012, 2019).

### 7.6. Κάπροι

Ο ιός έχει απομονωθεί από τους όρχεις, την επιδιδυμίδα, τους βουλβουρηθραίους αδένες και τον προστάτη μολυσμένων κάπρων. Ωστόσο, δεν έχουν αναφερθεί αξιοσημείωτες μακροσκοπικές και μικροσκοπικές αλλοιώσεις (Swenson και συν. 1994b, Prieto και συν. 2003, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

## 8. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ - ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

### 8.1. Βακτηριακής αιτιολογίας

Η μόλυνση των απογαλακτισμένων και αναπτυσσόμενων/παχυνόμενων χοίρων από τον PRRSV συχνά συνοδεύεται με την έξαρση νοσημάτων, τα οποία ενζωοτούν στην εκτροφή, προκαλώντας αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας (μπορεί να φτάσει έως και στο 20%). Οι δευτερογενείς επιπλοκές παρατηρούνται κυρίως σε εκτροφές με ελλιπή κτηνιατρική διαχείριση που δεν τηρούν τα απαιτούμενα μέτρα βιοασφάλειας και υγιεινής. Στα πιθανά νοσήματα που μπορεί να επιπλέξουν μία ενδεχόμενη μόλυνση των χοίρων από τον PRRSV περιλαμβάνονται: η πλευροπνευμονία, η νόσος του Glässer, η στρεπτοκοκκική μηνιγγίτιδα και πολυαρθρίτιδα, η ατροφική ρινίτιδα, η υπερπλαστική εντεροπάθεια και η δυσεντερία (Keffaber 1992, White 1992a, Halbur και Bush 1997, Zimmerman και συν. 2012, 2019).

Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η λοίμωξη των χοίρων από τον PRRSV ενδέχεται: α) να προδιαθέσει σημαντικά στη λοίμωξη των απογαλακτισμένων χοιριδίων από τον *Streptococcus suis* (Halbur και συν. 2000, Thanawongnuwech και συν. 2000) και των νεογέννητων χοιριδίων που ανήκαν σε τοκετοομάδες συών που μολύνθηκαν από τον ιό στο τελευταίο τρίτο της κυοφορίας τους (Van Gorp και συν. 2008, Karniychuk και Nauwynck 2013) και β) να αυξήσει την ευαισθησία τους σε

μολύνσεις από *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Bordetella bronchiseptica* αλλά και την κλινική εκδήλωση των νοσημάτων αυτών (Thacker και συν. 2000, Wills και συν. 2000, Brockmeier και συν. 2002).

## 8.2. Ιογενούς αιτιολογίας

Η προσβολή των χοίρων από τον PRRSV προδιαθέτει στην εμφάνιση συνδρόμων που συνδέονται με την ταυτόχρονη μόλυνσή τους από τον κυκλοϊό τύπου 2 (PCV2). Πρόκειται για το Συστηματική Νόσο των Απογαλακτισμένων Χοιριδίων που οφείλεται στον PCV2 και το Σύνδρομο Δερματίτιδας και Νεφροπάθειας του Χοίρου (ΣΔΝΧ) (Kennedy και συν. 2000, Choi και Chae 2001, Brockmeier και συν. 2002, Segales και συν. 2013). Σε κλινικά περιστατικά ταυτόχρονης μόλυνσης από τον PRRSV και τον PCV2 αναφέρθηκαν αυξημένη ένταση κλινικών συμπτωμάτων και εκτεταμένη διάμεση πνευμονία στους νοσούντες χοίρους. Οι δύο αυτοί ιοί παρουσιάζουν τροπισμό προς τα μακροφάγα και ο PRRSV ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και τη διασπορά του PCV2 (Allan και συν. 2000, Done 2003). Οι Dong και συν. (2007) διαπίστωσαν ότι σε ζώα με λοίμωξη από PCV2, οι περαιτέρω επιπλεγμένες λοιμώξεις με τον PRRSV, τον ιό της γρίπης και το *Mycoplasma hyopneumoniae* είχαν σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία και στις αποδόσεις των απογαλακτισμένων και αναπτυσσόμενων χοίρων. Ακόμη, σε πειραματική μόλυνση παχυνόμενων χοίρων αρχικά με τον PRRSV και μετέπειτα πειραματική μόλυνση και με τους ιούς της γρίπης και τον αναπνευστικό κορωνοϊό, διαπιστώθηκε ότι τα ζώα εκδήλωσαν πιο σοβαρά αναπνευστικά συμπτώματα, καθώς και μεγαλύτερη καθυστέρηση στην ανάπτυξη (Van Reeth και συν. 1999).

## 9. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Το PRRS επιφέρει πολύ σοβαρές οικονομικές επιπτώσεις στους παραγωγούς, ενώ η αντιμετώπιση και ο έλεγχός του αποτελούν μεγάλη πρόκληση της κτηνιατρικής επιστήμης, σε παγκόσμιο επίπεδο.

Η μείωση του αριθμού των γεννηθέντων ζωντανών χοιριδίων, της Μ.Η.Α.Σ.Β. και η αύξηση του Δ.Μ. και των ποσοστών θνησιμότητας αποτελούν τις βασικές αιτίες για τις απώλειες των παραγωγών. Έρευνες σχετικά με τις οικονομικές επιπτώσεις του PRRS κατέγραψαν απώλειες 1,4/απογαλακτισμένο χοίρο/συ και 6,01 €/νεογέννητο χοιρίδιο, 74,16 €/τοκετοομάδα και 7,67

€/αναπτυσσόμενο χοίρο σε μία μέση εκτροφή δυναμικότητας 500 χοιρομητέρων (Neumann και συν. 2005, Holtkamp και συν. 2013). Η ανάπτυξη του παχυνόμενου πληθυσμού καθυστερεί σημαντικά (έως και 1,5 μήνα) και η θνησιμότητα μπορεί να φθάσει έως 10% (Benfield και συν. 1999). Σε πρόσφατη μελέτη των Renke και συν. (2021) σε 21 εκτροφές χοίρων στη Γερμανία, αναφέρθηκαν απώλειες της τάξης των 255€ / συ και μείωση του μέσης κερδοφορίας τους από 19% έως 41%.

Το PRRS κατά την είσοδό του στον οργανισμό του χοίρου αποικίζει, αρχικά, τα κυψελιδικά πνευμονικά μακροφάγα τα οποία και καταστρέφει. Τα μακροφάγα αυτά αποτελούν σημαντικό αμυντικό μηχανισμό της κατώτερης αναπνευστικής οδού, αλλά και μεταφοράς ορισμένων αντιβιοτικών στους πνεύμονες. Η καταστροφή των μακροφάγων μπορεί να προκαλέσει αυξημένη εμφάνιση πιθανών δευτερογενών επιπλοκών και να καθιστά αναποτελεσματική την αντιμετώπισή τους με τη χρήση αντιβιοτικών (Beyer και συν. 2000, Zimmermann και συν. 2006, 2012, Snijder και συν. 2013, Vlahos και Bozinovski 2014). Ο ιός του PRRS εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένεια του ΑΣΑΠΧ, η οποία περιλαμβάνει διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς (ιούς και βακτήρια) του αναπνευστικού συστήματος (Thacker και συν. 2000, Wills και συν. 2000, Brockmeier και συν. 2002). Το σύνδρομο είναι υπεύθυνο για μεγάλες οικονομικές απώλειες στη σύγχρονη παγκόσμια χοιροτροφία (Neumann και συν. 2005, Holtkamp και συν. 2013). Ενδεικτικά, οι Gntanu και Mandescu (2002) σε κλινικό περιστατικό ΑΣΑΠΧ με συμμετοχή του PRRS, ανέφεραν οικονομικές απώλειες που ανέρχονταν στα 777.449€. Αντίστοιχες σοβαρές οικονομικές ζημίες έχουν καταγραφεί και στην ελληνική χοιροτροφία. Μάλιστα, ο Μπαλκάμος σε μελέτη του, το 2004, παρατήρησε ότι τα επίπεδα θανάτων σε αναπτυσσόμενους/παχυνόμενους χοίρους ήταν αρκετά χαμηλότερα στις ελληνικές εκτροφές που ήταν απαλλαγμένες από τον PRRSV, σε σχέση με αυτές που ήταν μολυσμένες από αυτόν. Το κόστος για τον έλεγχο των δευτερογενών λοιμώξεων σε περιστατικά του PRRS ενδέχεται να φθάσει μέχρι και τα 5,43€/παραγόμενο χοίρο (Neumann και συν. 2005, Holtkamp και συν. 2013, Nathues και συν. 2017).

## **10. ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ**

Στη διαφορική διάγνωση του PRRS περιλαμβάνονται αρκετά βακτηριακά και ιογενή νοσήματα και πιο συγκεκριμένα: αναπνευστική νόσος που οφείλεται σε λοίμωξη από PCV2, γρίπη,

νόσος του Aujeszky, παρβοϊώση, κλασική και αφρικανική πανώλη, μεταδοτική γαστρεντερίτιδα, επιδημική διάρροια του χοίρου, αναπνευστικός κορωναιός του χοίρου, λεπτοσπείρωση, ερυθρά, ενζωτική πνευμονία, νόσος του Glasser και λόιμωξη από *Streptococcus suis*.

Αρχικά, υποψία για την ύπαρξη του νοσήματος στην εκτροφή τίθεται, όταν χοίροι κάθε ηλικίας, ιδιαίτερα οι αναπτυσσόμενοι/παχυνόμενοι χοίροι, παρουσιάζουν αναπνευστικά συμπτώματα (Cano και συν. 2009, Zimmerman και συν. 2012, 2019) και οι σύες ή/και οι κάπροι εμφανίζουν αναπαραγωγικά προβλήματα (ποσοστό αποβολών και πρόωρων τοκετών >8%, ποσοστό θνησιμότητας γαλουχούμενων χοιριδίων >26%, ποσοστό θνησιγενών και μουμιοποιημένων χοιριδίων >20%), συνοδευόμενη από επακόλουθη πτώση των παραγωγικών παραμέτρων (Halbur και Bush 1997, Benfield και συν. 1999, Cano και συν. 2009, Zimmerman και συν. 2012, 2019). Η διάγνωση του PRRS βασίζεται στην εξέταση του ιστορικού της εκάστοτε εκτροφής, την καταγραφή των παραγωγικών παραμέτρων, τα κλινικά και νεκροτομικά ευρήματα και τις εργαστηριακές εξετάσεις. Ωστόσο, η οριστική διάγνωση μπορεί να επιτευχθεί μέσω ειδικών εργαστηριακών εξετάσεων (Benfield και συν. 1999, Christopher-Hennings 2000, Bierk και συν. 2001). Στις εργαστηριακές εξετάσεις που πραγματοποιούνται για τη διάγνωση του PRRS περιλαμβάνονται οι εξής:

### **10.1. Ορολογικές δοκιμές**

Στις ορολογικές δοκιμές που διενεργούνται για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ιού του PRRS ανήκουν ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IFA), η δοκιμή της ανοσοϋπεροξειδάσης μονής στιβάδας (IPMA), η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA) και η οροεξουδετέρωση (SN).

Ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IFA-Indirect Immunofluorescent Assay) μπορεί να ανιχνεύσει τις ανοσοσφαιρίνες IgM από την 5<sup>η</sup> έως την 21<sup>η</sup>-28<sup>η</sup> ημέρα και τις IgG από την 9<sup>η</sup>-14<sup>η</sup> ημέρα, οι οποίες φθάνουν στη μέγιστη συγκέντρωσή τους μέχρι την 30<sup>η</sup>-50<sup>η</sup> ημέρα και έως 3-5 μήνες μετά τη μόλυνση, αντίστοιχα. Ωστόσο, η αξιοπιστία της συγκεκριμένης μεθόδου είναι αμφίβολη, καθώς εξαρτάται από την αντιγονική ποικιλομορφία μεταξύ των στελεχών του ιού (Zhou και συν. 2002, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

Η ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA-enzyme-linked immunosorbent assay) υπερέχει σε σχέση με τις υπόλοιπες ορολογικές μεθόδους, καθώς είναι δυνατός ο γρήγορος χειρισμός αυξημένου

αριθμού δειγμάτων. Μέσω της ELISA είναι δυνατή η ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ιού από την 9<sup>η</sup> ημέρα. Να σημειωθεί ότι την 30<sup>η</sup> -50<sup>η</sup> ημέρα αυτά φθάνουν στη μέγιστη συγκέντρωσή τους, ενώ 4-12 μήνες μετά τη μόλυνση δεν ανιχνεύονται (Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Ένα ακόμη πλεονέκτημα που προσφέρει η δοκιμή ELISA είναι η διάκριση μεταξύ ευρωπαϊκών και αμερικανικών στελεχών του ιού είτε μέσω της Blocking ELISA (Sorensen και συν. 1997) είτε μέσω τεχνικών ELISA που χρησιμοποιούν ως αντιγόνα την ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη N (Seuberlich και συν. 2002). Το μειονέκτημα των συγκεκριμένων μεθόδων είναι η αδυναμία ανεύρεσης των χοίρων- φορέων του ιού, των ζώων δηλαδή με εμμένουσα μόλυνση (Houston και Radostits 2000).

Η μέθοδος IPMA (δοκιμή της ανοσοϋπεροξειδάσης μονής στιβάδας-Immunoperoxidase Monolayer Assay) είναι η πρώτη ορολογική διαγνωστική μέθοδος που εφαρμόστηκε για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του ιού. Μπορεί να ανιχνεύσει αντισώματα από την 7<sup>η</sup> -14<sup>η</sup> ημέρα μετά τη μόλυνση. Σήμερα, όμως, εφαρμόζεται με μικρότερη συχνότητα σε σχέση με την ELISA (Wensvoort και συν. 1991).

Η οροξεουδετέρωση (SN-Serum Neutralising) επιτρέπει τη διάκριση των διαφόρων στελεχών του ιού. Ωστόσο, μπορεί να ανιχνεύσει αντισώματα κατά του συνδρόμου αφότου περάσουν 1-2 μήνες από τη μόλυνση (Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

## **10.2. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος και αντιγόνων του PRRSV**

Η μέθοδος PCR (Polymerase chain reaction) παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία στην ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος του ιού του PRRS. Μέσω της συγκεκριμένης μεθόδου είναι δυνατή η ανίχνευση του ιού και σε περιπτώσεις στις οποίες είναι δύσκολη η απομόνωσή του, όπως σε δείγματα σπέρματος ή αυτολυμένους ιστούς (Houston και Radostits 2000, Benson και συν. 2001). Η RT-PCR (ανάστροφης μεταγραφάσης-reverse-transcription PCR) είναι η πλέον ευαίσθητη δοκιμή ανίχνευσης του ιού και χρησιμοποιείται ευρέως. Σήμερα, έχουν αναπτυχθεί αρκετά πρωτόκολλα RT-PCRs, τα οποία σε συνδυασμό με τη φυλογενετική ανάλυση επιτρέπουν εντοπισμό των ευρωπαϊκών και των αμερικανικών στελεχών καθώς και τη μεταξύ τους διαφοροποίηση (Bierk και συν. 2001, Egli και συν. 2001, Pesch 2003, Fetzler και συν. 2006).

Άλλου είδους εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του αντιγόνου του ιού του PRRS είναι η μέθοδος της ανοσοϊστοχημείας (IHC-Immunohistochemistry) (Halbur και συν. 1996a) η οποία επιτρέπει την ανίχνευση του ιού σε διάφορους ιστούς, κυρίως στους πνεύμονες και τις αμυγδαλές και ο άμεσος ανοσοφθορισμός (FA-Fluorescent Antibody) που διενεργείται για την ανίχνευση του ιϊκού αντιγόνου στο αίμα (Yoon και συν. 1992).

### **10.3 Απομόνωση και ταυτοποίηση του PRRSV**

Απομόνωση του ιού PRRSV έχει επιτευχθεί από διάφορα όργανα, αλλά ο ορός του αίματος αποτελεί το υλικό εκλογής, διότι ο ιός εμφανίζει μεγαλύτερη σταθερότητα σε αυτόν από ό,τι στους ιστούς (Bøtner 1997). Στις σύς και τους κάπρους η ανίχνευση του ιού από τον ορό του αίματος μπορεί να επιτευχθεί 1-2 εβδομάδες μετά τη μόλυνση, ενώ από τα χοιρίδια που βρίσκονται στο στάδιο της γαλουχίας και του απογαλακτισμού μέχρι και 6 εβδομάδες μετά τη μόλυνση. Η χρονική αυτή διαφορά στη δυνατότητα απομόνωσης του ιού, στις διαφορετικές ηλικίες των χοίρων, εξηγείται από τη μεγαλύτερη διάρκεια ιαμίας που εμφανίζουν τα γαλουχούμενα και απογαλακτισμένα χοιρίδια σε σχέση με τις σύς και τους κάπρους (Mengeling και συν. 1996b, 2000, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019).

## **11. ΠΡΟΛΗΨΗ**

Εξαιτίας των σημαντικών οικονομικών απωλειών που προκαλεί ο ιός είναι απαραίτητο οι εμπορικές εκτροφές σε συνεργασία με τους αρμόδιους κτηνιάτρους να εφαρμόζουν προληπτικό πρόγραμμα το οποίο θα αποτρέπει την εμφάνιση του συνδρόμου. Προς την κατεύθυνση αυτή, τα προτεινόμενα προγράμματα της διεθνούς βιβλιογραφίας στηρίζονται στα παρακάτω σημεία:

### **A) Εφαρμογή περιοδικών διαγνωστικών δοκιμών σε επίπεδο εκτροφής**

Η εφαρμογή περιοδικών διαγνωστικών εξετάσεων αποσκοπεί στην καταγραφή του ορολογικού προφίλ της εκτροφής, την αξιολόγηση της μετάδοσης του ιού εντός του πληθυσμού της εκτροφής και στην γενικότερη κατανόηση του τρόπου διασποράς του σε αυτή. Η καλύτερη μέθοδος για τη συλλογή των παραπάνω στοιχείων είναι η διενέργεια αιμοληψιών από κατάλληλο αριθμό, τυχαία επιλεγμένων χοίρων κάθε ηλικίας και η επακόλουθη χρήση δοκιμών PCR κατά κύριο λόγο,

αλλά και ELISA ή IFA. Η εξέταση PCR παρέχει τη δυνατότητα στον κλινικό κτηνίατρο να εξακριβώσει την ύπαρξη ιαμίας στα ζώα και συνεπώς της «κυκλοφορίας» του ιού στην εκτροφή, προκειμένου να προτείνει το κατάλληλο σχήμα εμβολιασμού. Επιπλέον, η διενέργεια των διαγνωστικών εξετάσεων για την καταγραφή του ορολογικού προφίλ της εκτροφής συνιστάται να γίνεται πριν από τον εμβολιασμό κατά του PRRSV, λόγω της μη ύπαρξης ειδικών δοκιμών που επιτρέπουν τη διαφοροποίηση των αντισωμάτων που παράγονται λόγω του εμβολιασμού και των αντίστοιχων που παράγονται κατά τη φυσική λοίμωξη. Επιπλέον, σε συνέχεια των ορολογικών δοκιμών που έχουν προηγηθεί, η διενέργεια ιστοπαθολογικών εξετάσεων σε μολυσμένους χοίρους, καθιστά την επαλήθευση ή όχι του PRRS ή άλλου νοσήματος που μπορεί να συνυπάρχει. Συνεπώς, η ιστοπαθολογική εξέταση και η ανίχνευση του ιού επιβεβαιώνουν την ερμηνεία των ορολογικών εξετάσεων (Benfield και συν. 1999, Bierk και συν. 2001).

Οι ορολογικές εξετάσεις μας δίνουν πληροφορίες για έκθεση του οργανισμού στον παθογόνο παράγοντα, η PCR για την παρουσία του ιού δηλ μόλυνση και οι συμβατές ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις επιβεβαιώνουν το νόσημα.

### ***B) Διαχείριση νεαρών ζώων αντικατάστασης***

Συνιστάται η εφαρμογή κτηνιατρικού προγράμματος διαχείρισης των νεαρών ζώων αντικατάστασης πριν την ανάμιξή τους με τον υπόλοιπο αναπαραγωγικό πληθυσμό της εκτροφής. Συγκεκριμένα, οι νεαρές σύες αντικατάστασης θα πρέπει, αρχικά, να διαβιώνουν σε ειδικά κτίρια καραντίνας, που θα βρίσκονται σε απόσταση από τους υπολοίπους θαλάμους της εκτροφής. Το ειδικό πρόγραμμα για την προετοιμασία των νεαρών ζώων αντικατάστασης διακρίνεται σε τρεις στάδια: απομόνωσης, εγκλιματισμού και ανάρρωσης.

Κατά τη διάρκεια της φάσης της απομόνωσης, τα ζώα υποβάλλονται σε ορολογικές εξετάσεις για να διερευνηθεί το ενδεχόμενο έκθεσης στον PRRSV. Οι εξετάσεις πραγματοποιούνται από τις πρώτες ημέρες μέχρι και 2 εβδομάδες αφού εισέλθουν στο κτίριο της καραντίνας, όπου και παραμένουν για 30 ημέρες. Ακολούθως, το κτίριο της καραντίνας απολυμαίνεται και παραμένει κενό για 7 ημέρες. Σε περίπτωση που τα αποτελέσματα των εξετάσεων είναι αρνητικά, ξεκινά η φάση του εγκλιματισμού, 30 ημέρες συνήθως μετά την είσοδό τους στην εκτροφή. Η φάση αυτή στοχεύει στην

έκθεση των ζώων στα ήδη υπάρχοντα στην εκτροφή στελέχη του ιού. Κατά τη διάρκεια του εγκλιματισμού τα νεαρά ζώα αντικατάστασης αναμιγνύονται με μολυσμένους από τον ιό του PRRS αναπτυσσόμενους/ παχυνόμενους χοίρους ή σύς που πρόκειται να απομακρυνθούν. Τέλος, ακολουθεί η φάση της ανάρρωσης που έχει ως σκοπό τη μείωση του κινδύνου εισαγωγής νεαρών σιών-φορέων στον αναπαραγωγικό πληθυσμό της εκτροφής, έτσι ώστε τα νεαρά ζώα αντικατάστασης να αναρρώσουν πριν την εισαγωγή τους στην αγέλη πυρήνα της εκτροφής. Η συγκεκριμένη φάση διαρκεί 30 ημέρες περίπου (Bierk και συν. 2001, Dee 2004).

#### ***Γ) Διαχείριση αναπαραγωγικού πληθυσμού***

Η σταθεροποίηση του αναπαραγωγικού πληθυσμού αποσκοπεί στην πρόληψη της μετάδοσης του ιού από τη συστατική χοιριδία της. Προς αυτήν την κατεύθυνση εφαρμόζονται προγράμματα εμβολιασμού των σιών, στα οποία χρησιμοποιούνται είτε ΕΛΔ εμβόλια, είτε αδρανοποιημένα εμβόλια (Bierk και συν. 2001, Dee 2004).

#### ***Δ) Διαχείριση απογαλακτισμένων χοιριδίων***

Η μεταχείριση των απογαλακτισμένων χοιριδίων είναι βαρύνουσας σημασίας για τον έλεγχο του συνδρόμου στην εκτροφή, καθώς συμβάλλει στον έλεγχο της διασποράς του ιού στους αναπτυσσόμενους και παχυνόμενους χοίρους. Προς αυτήν την κατεύθυνση εφαρμόζεται, σε χώρες με ιδιαίτερα ανεπτυγμένη χοιροτροφία, ο μερικός αποπληθυσμός των απογαλακτισμένων χοιριδίων και ο εμβολιασμός τους. Σκοπός της μεθόδου του μερικού αποπληθυσμού είναι η διακοπή της οριζόντιας μετάδοσης του ιού και ο περιορισμός του στα απογαλακτισμένα χοιρίδια.

Επιπλέον, η εκτροφή κατά ομάδες και η εφαρμογή του συστήματος της μονοεκτροφής (all in-all out) συμβάλλουν σημαντικά στην αποτροπή της οριζόντιας μετάδοσης του ιού από χοίρους μικρότερης σε χοίρους μεγαλύτερης ηλικίας και το αντίστροφο (Harris και Alexander 1999). Διευκολύνουν επίσης, τον καθαρισμό και την απολύμανση των σταβλικών εγκαταστάσεων της εκτροφής. Μέσω του all in-all out επιτυγχάνεται η μείωση της συχνότητας εμφάνισης δευτερογενών λοιμώξεων στους απογαλακτισμένους χοίρους, καθώς έχει κριθεί ως ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην πρόληψη των αναπνευστικών λοιμώξεων (Dee 2004).



Η εφαρμογή του παραπάνω προληπτικού προγράμματος συμβάλει στον έλεγχο του συνδρόμου στην εκτροφή, δεν συνεπάγεται όμως και εκρίζωσή του. Οι δυσκολίες της εκρίζωσης του ιού του PRRS από τις εκτροφές οφείλονται: α) στην ικανότητα του ιού να εξελίσσεται συνεχώς, με συνέπεια να αναπτύσσονται νέα στελέχη και να διερύνεται η ποικιλομορφία του, β) στην εμμένουσα λοίμωξη που μπορεί να προκαλέσει ο ιός και γ) στον ελλιπή έλεγχο των νεαρών ζώων αντικατάστασης. Συνεπώς, η εκρίζωση του νοσήματος σε επίπεδο εμπορικών εκτροφών είναι αρκετά δύσκολη και αποτελεί μεγάλη πρόκληση.

## **12. ΕΜΒΟΛΙΑ – ΕΜΒΟΛΙΑΚΑ ΣΧΗΜΑΤΑ**

Η παρασκευή εμβολίων κατά του ιού του PRRS αποτελεί σημείο κλειδί στην πρόληψη και την αντιμετώπιση του συνδρόμου. Το πρώτο εμπορικό εμβόλιο που παρασκευάστηκε και κυκλοφόρησε στην Ισπανία (Cyblue, Cyanamid. Spain), το 1993, ήταν νεκρό. Ένα χρόνο αργότερα στις ΗΠΑ, κυκλοφόρησε το πρώτο Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (ΕΛΔ) εμβόλιο (RespPRRS<sup>®</sup>), από την εταιρεία Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH, για χορήγηση σε χοίρους ηλικίας 3-18 εβδομάδων για την πρόληψη της αναπνευστικής μορφής του συνδρόμου. Το συγκεκριμένο εμβόλιο έλαβε το 1996 έγκριση προκειμένου να χρησιμοποιηθεί και στον θηλυκό, αναπαραγωγικό πληθυσμό (όχι για τις κυοφορούσες σύς) των εκτροφών, με στόχο την πρόληψη της εμφάνισης των αναπαραγωγικών διαταραχών. Στην Ευρώπη, το συγκεκριμένο εμβόλιο κυκλοφόρησε με την εμπορική ονομασία Ingelvac<sup>®</sup> PRRS MLV (Mengeling και συν. 1996c). Σήμερα, έχουν πλέον παρασκευαστεί και κυκλοφορήσει αρκετά εμπορικά εμβόλια, τόσο ΕΛΔ όσο και αδρανοποιημένα. (Papatsiros 2012a, 2012b, Nan και συν. 2017, Zimmerman και συν. 2019, Chae 2021, Maragkakis και συν. 2022). Πολλά από αυτά είναι διαθέσιμα και στην Ελλάδα. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί και εμβόλια δεύτερης γενιάς, όπως είναι τα εμβόλια υπομονάδων (subunit) και τα εμβόλια-φορείς (self-limiting vectors), με ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Jeong και συν. 2017, Oh και συν. 2019, Dai και συν. 2020, Garcia- Morante και συν. 2020).

### 12.1. «Ζωντανά» Ελαττωμένης Λοιμογόνου Δύναμης (ΕΛΔ) εμβόλια

Τα ΕΛΔ εμβόλια χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο του συνδρόμου (Papatsiros 2012a,b, Nan και συν. 2017, Zimmerman και συν. 2019, Chae 2021, Maragkakis και συν. 2021). Τα εμπορικά ΕΛΔ εμβόλια που διατίθενται και κυκλοφορούν στην Ελλάδα δίνονται στον Πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Εμπορικά ΕΛΔ εμβόλια που κυκλοφορούν στην Ελλάδα

Εμπορικό όνομα	Χοίροι	Στέλεχος ιού	Παρασκευαστής
Porcillis <sup>®</sup> PRRS	Σύες/Χοιρίδια $\geq 2$ εβδομάδων	DV	MSD Animal Health
Suvaxyn <sup>®</sup> PRRS	Σύες	96V198	Zoetis
UniStrain <sup>®</sup> PRRS	Σύες	VP- 046 BIS	Hipra
ReproSyc <sup>®</sup> PRRS	Σύες	94881	Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH
Ingelvac <sup>®</sup> PRRS	Χοιρίδια $\geq 17$ ημερών	94881	Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH
Suvaxyn <sup>®</sup> PRRS	Χοιρίδια $\geq 2$ ημερών	96V198	Zoetis

Τα αποτελέσματα πειραματικών ερευνών έθεσαν σημαντικούς προβληματισμούς σχετικά με την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα και τους περιορισμούς της χρήσης των ΕΛΔ εμβολίων, ειδικά όταν δεν ακολουθούνται αυστηρά οι οδηγίες της παρασκευάστριας εταιρείας (Thanawongnuwech και Suradhat 2010, Murtaugh και Genzow 2011, Papatsiros και συν. 2012b, Lunney και συν. 2016). Για τον επιτυχή σχεδιασμό ενός εμβολιακού προγράμματος με χρήση ΕΛΔ εμβολίων θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα παρακάτω:

1) Ο ΕΛΔ εμβολιακός ιός ενδέχεται να προξενήσει ιαμμία στους χοίρους που εμβολιάζονται, με διάρκεια από εβδομάδες έως μήνες και να έχει δράση παρόμοια με αυτή του φυσικού ιού (Mengeling και συν. 1996a, Benfield και συν.1997, Scotti και συν. 2006, Papatsiros και συν. 2012b, Nan και συν. 2017, Zimmerman και συν. 2012, 2019).

2) Ο ΕΛΔ εμβολιακός ιός μπορεί να απεκκριθεί από τα εμβολιασμένα ζώα και να μεταδοθεί σε οροαρνητικά ζώα της εκτροφής, με αποτέλεσμα την πιθανή εμφάνιση αναπαραγωγικών ή/και αναπνευστικών προβλημάτων (Benfield και συν.1997, Labarque και συν. 2003, Scortti και συν. 2006, Papatsiros και συν. 2012b, Zimmerman και συν. 2012, 2019).

3) Ο ΕΛΔ εμβολιακός ιός είναι ικανός να διαπεράσει τον πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα. Σημαντικός αριθμός ερευνών έχει αναφέρει αυτή την ικανότητα του εμβολιακού ιού, ειδικά όταν οι σύες εμβολιάζονται στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας (Jiang και συν. 2000, Bierk και συν. 2001, Stadejek και συν. 2002, Neumann και συν. 2005, Prieto και Castro 2005, Zimmerman και συν. 2012, Karniychuk και συν. 2013).

4) Ο εμβολιασμός των ενήλικων σιών με ΕΛΔ εμβόλια μπορεί να προκαλέσει μετάδοση του ιού στα έμβρυα, μέσω του πλακούντα και μόλυνση αυτών. Τα χοιρίδια που μολύνονται *in utero* είναι πιθανό, στη συνέχεια, να μεταδώσουν τον ιό και σε απογαλακτισμένα χοιρίδια, όταν πλέον έχουν μειωθεί σημαντικά οι συγκεντρώσεις των μητρικών τους αντισωμάτων (Mateusen και συν. 2007, Van Gorp και συν. 2008, Karniychuk και συν. 2013).

5) Ο ΕΛΔ εμβολιακός ιός μπορεί να προκαλέσει ιαιμία σε εμβολιασμένους κάπρους και να μεταδοθεί μέσω του σπέρματος στις σύς. Ο εμβολιασμός των κάπρων με ΕΛΔ εμβόλια μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων του συνδρόμου και να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματός τους (Christopher-Hennings και συν. 1997, Vilaca και συν. 2001, 2003, Papatsiros και συν. 2012b).

6) Ο ιός παρουσιάζει αυξημένη γενετική και αντιγονική ποικιλομορφία, με αποτέλεσμα την πιθανή εμφάνιση μεταλλαγμένων στελεχών, έναντι των οποίων δεν παρέχει ικανοποιητική ετερόλογη προστασία ο εμβολιασμός με ΕΛΔ εμβόλια (Benfield και συν. 1999, Done 2001, 2003, Scortti και συν. 2007, Vanhee και συν. 2009, Thanawongnuwech και Suradhat 2010).

### **12.2 Αδρανοποιημένα (νεκρά) εμβόλια**

Τα εμπορικά αδρανοποιημένα εμβόλια που διατίθενται και κυκλοφορούν στην Ελλάδα δίνονται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 2.** Εμπορικά αδρανοποιημένα εμβόλια που κυκλοφορούν στην Ελλάδα.

Εμπορικό όνομα	Χοίροι	Στέλεχος ιού	Παρασκευαστής
PROGRESSIS®	Σύες	P120	Ceva Animal Health
INGELVAC® PRRS	Σύες	P120	Boehringer Ingelheim Animal Health GmbH

Το μεγάλο τους πλεονέκτημα σε σχέση με τα ΕΛΔ εμβόλια είναι η ασφάλεια, καθώς η χορήγηση τους: α) δεν προκαλεί ιαιμία στα ζώα και συνεπώς δεν υπάρχει ο κίνδυνος απέκκρισης του εμβολιακού ιού και β) δεν προκαλεί αναπαραγωγικές διαταραχές στις εμβολιασμένες σύς (Scotti και συν. 2007, Vanhee και συν. 2009, Thanawongnuwech και Suradhat 2010, Karniychuk και Nauwynck 2013). Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά τους κρίνεται αμφίβολη αν και τα ευρήματα διαφόρων σχετικών μελετών είναι αντικρουόμενα. Συγκεκριμένα, έρευνες έχουν αναδείξει την αποτελεσματική προστασία των εμβολιασμένων σιών από την αναπαραγωγική μορφή του συνδρόμου, με τη χορήγηση αδρανοποιημένου εμβολίου, βελτιώνοντας τις αναπαραγωγικές παραμέτρους και τα χαρακτηριστικά των τοκετοομάδων τους (Plana-Duran και συν. 1997, Joisel και συν. 2001, Cai και συν. 2002, Papatsiros και συν. 2006, Papatsiros 2012a). Επιπλέον, τα νεογέννητα χοιρίδια δεν εκδήλωσαν κλινικά συμπτώματα του συνδρόμου, λόγω της παροχής ικανοποιητικής παθητικής ανοσίας. Ωστόσο, σε άλλες έρευνες, ο εμβολιασμός με αδρανοποιημένο εμβόλιο οροαρνητικών νεαρών σιών πριν τη γονιμοποίηση, δεν παρείχε ικανοποιητική προστασία των σιών από την *in utero* επαναμόλυνση με ομόλογο στέλεχος κατά την 90<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας, ενώ σημαντικός αριθμός απογαλακτισμένων χοιριδίων εμφάνισε επίμονη μόλυνση (Scotti και συν. 2007, Papatsiros 2012a). Οι Kim και συν. (2011) διαπίστωσαν ότι η χορήγηση αδρανοποιημένων εμβολίων σε σύς, μετά τη μόλυνσή τους από ετερόλογο στέλεχος, προκάλεσε χαμηλού επιπέδου παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων και IFN $\gamma$ , με αποτέλεσμα την ασθενή ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας. Όσον αφορά τον εμβολιασμό των κάπρων με αδρανοποιημένο εμβόλιο, αυτός θεωρείται αρκετά ασφαλής, καθώς δεν έχει παρατηρηθεί κάποια αρνητική επίδραση στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σπέρματός τους (Papatsiros και συν. 2006).

## **Μέρος Β**

# **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ**



# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

## **1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

### **1.1. Εκτροφές διεξαγωγής του πειραματισμού**

Ο πειραματισμός έλαβε χώρα σε τέσσερις διαφορετικές χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις, όπως αναφέρονται ακολούθως:

- Εκτροφή 1: Δήμος Αρχαίας Ολυμπίας, Ηλεία- δυναμικότητα 400 συών.
- Εκτροφή 2: Δήμος Κιλελέρ, Λάρισα- δυναμικότητα 600 συών.
- Εκτροφή 3: Δήμος Δίον, Πιερίας- δυναμικότητα 600 συών.
- Εκτροφή 4: Δήμος Φιλιπιάδας, Πρέβεζα-δυναμικότητα 600 συών.

Το γενετικό υλικό των εκτροφών ήταν μιγάδες των φυλών Large White x Landrace (LW x L). Κάθε εκτροφή διέθετε αγέλη πυρήνα, μέσω της οποίας γινόταν η ανανέωση των θηλυκών γεννητόρων με την παραγωγή νεαρών συών αντικατάστασης. Στις συγκεκριμένες εκτροφές το ετήσιο ποσοστό αντικατάστασης κυμαινόταν στο 33-35% περίπου. Η αρχική επιλογή των νεαρών συών αντικατάστασης πραγματοποιούταν κατά τον απογαλακτισμό τους, με κύρια κριτήρια τις αποδόσεις των γεννητόρων τους και την απουσία εμφανών συγγενών διαμαρτιών διάπλασης. Η τελική επιλογή γινόταν στην ηλικία των πέντε μηνών, αξιολογώντας τη σωματική διάπλαση, τον ρυθμό ανάπτυξης και την απουσία εμφανών σωματικών ανωμαλιών ή παθολογικών καταστάσεων, που ενδέχεται να επηρεάσουν τη μελλοντική αναπαραγωγική δραστηριότητά τους.

Επιπλέον, όλες οι εκτροφές στις οποίες διεξήχθη ο πειραματισμός, διέθεταν σύστημα ηλεκτρονικής καταγραφής των αναπαραγωγικών και παραγωγικών δεδομένων, καθώς και όλων των ενεργειών που εφαρμόζονται στα πλαίσια του προγράμματος κτηνιατρικής διαχείρισης της εκάστοτε εκτροφής, με τη χρήση ειδικού λογισμικού.

### **1.2. Κτιριακές εγκαταστάσεις**

Όλες οι εκτροφές που συμπεριλήφθηκαν στον πειραματισμό παρουσιάζουν παρόμοια δομή και διαθέτουν σύγχρονες κτιριακές εγκαταστάσεις, οι οποίες ικανοποιούν τις απαιτήσεις σταβλισμού των χοίρων και παράλληλα εξασφαλίζουν την ευζωία τους. Ειδικότερα, διαθέτουν τα εξής κτίρια: συζεύξεων, συών σε κυοφορία, νεαρών συών αντικατάστασης, τοκετών- γαλουχίας, απογαλακτισμού, προπάχυνσης, τελικής πάχυνσης. Ακόμη, διαθέτουν παρασκευαστήριο ζωοτροφών και σιλό για την



αποθήκευσή τους, ιδιόκτητη γεώτρηση άντλησης νερού, εργαστήριο τεχνητής σπερματέγχυσης και άλλα βοηθητικά κτίρια. Σε αυτά περιλαμβάνονται οικήματα διαμονής εργατικού προσωπικού, γραφεία διοικήσεως και αποδυτήρια αλλαγής ρουχισμού τόσο του προσωπικού όσο και των επισκεπτών.

Τα παρασκευαστήρια ζωοτροφών είχαν παρόμοια δομή μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, διέθεταν μύλο άλεσης των ζωοτροφών, αυτόματο σύστημα ζύγισης και αυτοματοποιημένο σύστημα προώθησης της τροφής στα σιλό των θαλάμων της εκτροφής, μέσω δικτύου κοχλιομεταφορέων. Επίσης, στο συγκεκριμένο χώρο αποθηκεύονταν φαρμακούχα προμείγματα και πρόσθετες ύλες ζωοτροφών.

Για τις ανάγκες του πειραματισμού χρησιμοποιήθηκαν οι χώροι κυοφορίας και τοκετών των σιών.

### **1.3. Κριτήρια επιλογής των εκτροφών του πειραματισμού**

Σε όλες τις εκτροφές που συμμετείχαν στη μελέτη, κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας το νοσολογικό ιστορικό περιελάμβανε περιστατικά νόσησης από τον PRRSV. Η κυκλοφορία του ιού είχε επιβεβαιωθεί μέσω της διενέργειας RT-PCR σε δείγματα ορού αίματος, που είχαν συλλεχθεί από χοίρους όλων των ηλικιών (σύες, γαλουχούμενα χοιρίδια, απογαλακτισμένοι, αναπτυσσόμενοι και παχυνόμενοι χοίροι). Τα κλινικά συμπτώματα περιελάμβαναν αναπαραγωγικές διαταραχές (αυξημένα ποσοστά αποβολών, αυξημένα επίπεδα επιστροφών σε οίστρο και μη φυσιολογικές τοκετοομάδες με ύπαρξη μουμιοποιημένων και νεκρών χοιριδίων), αλλά και σοβαρά αναπνευστικά προβλήματα στον παχυνόμενο πληθυσμό και ιδιαίτερα στα γαλουχούμενα χοιρίδια. Οι 4 εκτροφές του πειραματισμού εφαρμόζουν πολυετή εφαρμογή εμβολιασμού κατά του PRRSV, αρχικά με τη χρήση νεκρών και κατά τα τελευταία έτη με τη χρήση ΕΛΔ εμβολίων, για τον έλεγχο και την αντιμετώπιση του συνδρόμου.

Στα κριτήρια επιλογής συμπεριλήφθηκε το διαφορετικό πρωτόκολλο εμβολιασμού στην κάθε μία (Πίνακας 4). Κατά τη διάρκεια της περιόδου προετοιμασίας (προπειραματική περίοδος) έγινε συλλογή ικανού αριθμού δειγμάτων ορού αίματος από χοίρους διαφορετικής ηλικίας: αναπαραγωγικός πληθυσμός (νεαρές σύες αντικατάστασης, έγκυες σύες και σύες στο στάδιο της γαλουχίας), απογαλακτισμένα χοιρίδια ηλικίας 50-60 ημερών, αναπτυσσόμενοι χοίροι ηλικίας 100-

110 ημερών και παχυνόμενοι χοίροι ηλικίας 150-160 ημερών. Σκοπός της δειγματοληψίας ήταν η διερεύνηση της παρουσίας του PRRSV στους χοίρους των εκτροφών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη με διενέργεια RT-PCR. Δεν ανιχνεύθηκε παρουσία και «κυκλοφορία» του ιού στις εκτροφές, γεγονός που υποδεικνύει ότι τα εφαρμοζόμενα εμβολιακά σχήματα και μέτρα διαχείρισης κατά του ιού του PRRS είχαν ως αποτέλεσμα τον αποτελεσματικό έλεγχο του.

Επιπλέον, κατά την προπειραματική περίοδο, οι σχετικές εργαστηριακές εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν την απουσία των ακόλουθων νοσημάτων στον αναπαραγωγικό πληθυσμό: νόσος του αναπαραγωγικού συστήματος που συνδεόταν με λοίμωξη από τον PCV2, νόσος του Aujeszky, παρβοϊώση, σαλμονέλλωση, λεπτοσπείρωση.

Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της προπειραματικής περιόδου, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες στις πρώτες ύλες των ζωοτροφών και τα τελικά σιτηρέσια όλων των εκτροφών του πειραματισμού για την ανίχνευση και τον ποσοτικό καθορισμό μυκοτοξινών και συγκεκριμένα αφλατοξινών (B1, B2, G1, G2), ωχρατοξίνης A (OTA), δεοξυनिβαλενόλης (DON), μεταβολιτών της DON (3-, 15-ακέτυλο-DON), νιβαλενόλης και ζεαραλενόνης (ZEN). Τα δείγματα ελέγχθηκαν στο εργαστήριο της εταιρίας «Andres Pinaluba S.A.» (Ταραγόνα, Ισπανία) με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC). Τα αποτελέσματα των εξετάσεων έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των μυκοτοξινών που ανιχνεύθηκαν ήταν σε τιμές μικρότερες από τις ανώτερες που ορίζει η Ευρωπαϊκή Ένωση όπως αυτές αναφέρονται (Πίνακας 3).

**Πίνακας 3.** Μέγιστα επιτρεπτά όρια διαφόρων μυκοτοξινών στις ζωοτροφές.

	<b>Μυκοτοξίνες</b>					
	<b>Αφλατοξίνες (B1, B2, G1, G2)</b>	<b>Ωχρατοξίνη A (OTA)</b>	<b>Δεοξυनिβαλενόλη (DON)</b>	<b>Ακετυλο-DON</b>	<b>Νιβαλενόλη</b>	<b>Ζεαραλενόνη (ZEN)</b>
<b>Μέγιστα</b>						
<b>επιτρεπτά</b>	22 µg/kg	50 µg/kg	250 µg/kg	250 µg/kg	250 µg/kg	50 µg/kg
<b>όρια</b>						

## **1.4. Προληπτικά μέτρα**

### **1.4.1. Απολυμάνσεις**

Όλες οι εκτροφές εφαρμόζαν το σύστημα all in- all out. Ειδικότερα, σε κάθε θάλαμο, μετά την απομάκρυνση των ζώων και πριν την εγκατάσταση της νέας παρτίδας χοίρων, πραγματοποιούνταν επιμελής καθαρισμός. Επιπλέον, οι θάλαμοι απολυμαίνονταν με τη χρήση διάφορων ενδεδειγμένων εμπορικών σκευασμάτων, σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή. Παράλληλα με την απολύμανση των θαλάμων, γίνονταν μυοκτονίες και εντομοκτονίες με τη χρήση ειδικών δολωμάτων και ψεκασμού με εντομοκτόνο διάλυμα, αντίστοιχα. Τέλος, μετά την απομάκρυνση των ζώων από τους θαλάμους και πριν την εισαγωγή των νέων, τηρούταν υγειονομικό κενό διάρκειας 7 ημερών.

Οι χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις περιβάλλονταν από προστατευτική περίφραξη, έτσι ώστε να διασφαλίζεται η είσοδος μόνο από συγκεκριμένο ελεγχόμενο σημείο και αφού έχει προηγηθεί απολύμανση. Έτσι, είναι υποχρεωτική η διέλευση όλων των οχημάτων, που εισέρχονται σε αυτές, από ειδικό τροχόλουτρο, το οποίο βρίσκεται εγκατεστημένο στην κεντρική είσοδο και περιέχει απολυμαντικό διάλυμα. Επιπλέον, το εργατικό προσωπικό και οι επισκέπτες φορούσαν κατάλληλη ένδυση και υπόδηση τα οποία παρέχονται από την εκτροφή. Ακόμη, υποχρεούνται να εμβαπτίζουν τα υποδήματά τους σε ειδικές λεκάνες με απολυμαντικό διάλυμα, οι οποίες είναι τοποθετημένες στην είσοδο κάθε θαλάμου.

### **1.4.2. Εμβολιασμοί**

Το εμβολιακό πρόγραμμα που εφαρμόζε η κάθε εκτροφή του πειραματισμού δίνεται στους παρακάτω πίνακες. Η μοναδική διαφορά εντοπιζόταν στις ημέρες του αναμνηστικού εμβολιασμού κατά του ιού του PRRS. Ειδικότερα, το εμβολιακό πρόγραμμα των εκτροφών 1 και 3 περιελάμβανε εμβολιασμό κατά του ιού την 6<sup>η</sup> ημέρα της γαλυχίας και την 60<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας. Αντίθετα, το εμβολιακό πρόγραμμα των εκτροφών 2 και 4 περιελάμβανε εμβολιασμό κατά του ιού μαζικά 4 φορές το χρόνο ανά 3 μήνες.

**Πίνακας 4.** Εμβολιακό πρόγραμμα που εφαρμόζεται στις εκτροφές του πειραματισμού.

<b>Νεαρές σύες αντικατάστασης</b>	
<b>Εμβολιασμός</b>	<b>Ηλικία εμβολιασμού (Ημέρες)</b>
Κολοβακτηριδίαση + Εντεροτοξιναιμία	170 + 200
Νόσος του Aujeszky	160 + 190
Παρβοϊωση + Ερυθρά	180 + 210
Ατροφική ρινίτιδα	160 + 190
PRRS	150 + 180

<b>Ενήλικες σύες</b>	
<b>Εμβολιασμός</b>	<b>Ηλικία εμβολιασμού</b>
Κολοβακτηριδίαση + Εντεροτοξιναιμία	2 εβδομάδες προ τοκετού
Νόσος του Aujeszky	4 εβδομάδες προ τοκετού
Παρβοϊωση + Ερυθρά	2 εβδομάδες μετά τον τοκετό
Ατροφική ρινίτιδα	2 εβδομάδες προ τοκετού
PRRS	6 <sup>η</sup> ημέρα γαλουχίας + 60 <sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας/4 φορές το χρόνο, ανά 3 μήνες μαζικός εμβολιασμός

<b>Κάπροι</b>	
<b>Εμβολιασμός</b>	<b>Ηλικία εμβολιασμού</b>
Νόσος του Aujeszky	3 φορές το χρόνο
Παρβοϊωση + Ερυθρά	3 φορές το χρόνο
Ατροφική ρινίτιδα	3 φορές το χρόνο

<b>Απογαλακτισμένοι χοίροι</b>	
<b>Εμβολιασμός</b>	<b>Ηλικία εμβολιασμού</b>
Ενζωοτική πνευμονία	7 <sup>η</sup> + 21 <sup>η</sup> ημέρα
Κυκλοϊός	21 <sup>η</sup> ημέρα

### **1.4.3. Φαρμακευτικές αγωγές**

Όλες οι εκτροφές του πειραματισμού εφάρμοζαν, συστηματικά, την ίδια φαρμακευτική αγωγή με σκοπό τον έλεγχο και τη μεταφύλαξη βακτηριακών λοιμώξεων. Ειδικότερα, η προληπτική φαρμακευτική αγωγή ήταν η εξής:

A) Χορήγηση χλωροτετρακυκλίνης στη δόση των 800 mg/kg τροφής στις σύς (1 εβδομάδα, κάθε 6 μήνες).

B) Χορήγηση αμοξικιλίνης στη δόση των 400 mg/kg μέσω της τροφής στα απογαλακτισμένα χοιρίδια, για διάστημα 14 ημερών από την ημέρα του απογαλακτισμού.

Οι εκτροφές εφάρμοζαν αντιπαρασιτικό πρόγραμμα, που περιλαμβάνει την παρεντερική χορήγηση ιβερμεκτίνης στη δόση των 300 µg/kg Σ.Β στις σύς 2 εβδομάδες πριν την αναμενόμενη ημερομηνία τοκετού και στους κάπρους ανά εξάμηνο. Επιπλέον, ιβερμεκτίνη χορηγούταν μέσω της τροφής στη δόση των 2 mg/kg τροφής στους αναπτυσσόμενους χοίρους (ηλικία 70 ημερών) για διάστημα μιας εβδομάδας.

### **1.4.4. Διατροφή**

Όλες οι εκτροφές που συμπεριλήφθηκαν στον πειραματισμό διέθεταν, όπως προαναφέρθηκε δικό τους παρασκευαστήριο ζωοτροφών και σιλό για την αποθήκευσή τους. Η τελική τροφή των ζώων παρασκευάζονταν στην εκτροφή με βάση πρώτες ύλες, όπως καλαμπόκι, κριθάρι, σιτάρι και σόγια. Καταρτίζονταν διαφορετικά σιτηρέσια για τις κυοφορούσες και τις γαλουχούσες σύς, όπως και για τους γαλουχούμενους, τους απογαλακτισμένους, τους αναπτυσσόμενους χοίρους και τους παχυνόμενους χοίρους.

Η χορήγηση του πόσιμου νερού γινόταν με αυτόματες ποτίστρες για *ad libitum* (κατά βούληση) κατανάλωσή του από τα ζώα.

## **2. ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

### **2.1. Χρόνος διενέργειας του πειραματισμού**

Η προ- πειραματική περίοδος είχε συνολική διάρκεια τεσσάρων μηνών και ειδικότερα διήρκεσε ένα μήνα σε κάθε μία από τις τέσσερις εκτροφές του πειραματισμού.

Η περίοδος του πειραματισμού διήρκεσε 13 μήνες. Συγκεκριμένα, ξεκίνησε στις 25/02/2019 με τον εμβολιασμό των κυοφορούντων σιών της εκτροφής 1, που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη και ολοκληρώθηκε στις 14/03/2020 με τις τελευταίες αιμοληψίες από τα νεογέννητα χοιρίδια της εκτροφής 4, που επίσης συμπεριλήφθηκαν σε αυτή.

## **2.2. Οργάνωση και σχεδιασμός του πειραματισμού**

Ο πειραματισμός περιελάμβανε 25 νεαρές σύες αντικατάστασης από κάθε εκτροφή ( $25 * 4 = 100$  νεαρές σύες αντικατάστασης- Βλέπε παρακάτω υποενότητα 3.Περιγραφή των δεδομένων). Η τελική επιλογή των νεαρών σιών αντικατάστασης που θα συμπεριλαμβάνονταν στον πειραματισμό γινόταν με κριτήρια τη σωματική τους διάπλαση (μέσο σωματικό βάρος: 125 Kg), την παρουσία 14 λειτουργικών θηλών (7 τουλάχιστον ζεύγη), καθώς και την απουσία εμφανών σωματικών ανωμαλιών στα εξωτερικά γεννητικά όργανα και τα άκρα ή παθολογικών καταστάσεων, που θα ήταν πιθανό να επιδράσουν αρνητικά στην αναπαραγωγική τους δραστηριότητα.

Οι επιλεγμένες νεαρές σύες κατανεμήθηκαν ισομερώς και τυχαία (<https://www.random.org/sequences/>) σε 5 διαφορετικές ομάδες μελέτης (5 νεαρές σύες σε κάθε ομάδα), όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 5. Καθώς ο PRRSV έχει τη δυνατότητα να διαπερνά τον πλακούντα της σύος μετά την 95<sup>η</sup> μέρα της κύησης και να προκαλεί μόλυνση των εμβρύων (Cao και συν. 2013, Mateusen και συν. 2007, Karniychuk και συν. 2013, Van Gorp και συν. 2008), συμπελήφθηκε ένας επιπλέον εμβολιασμός την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας των νεαρών σιών με τη χρήση διαφορετικών εμπορικών ΕΛΔ εμβολίων κατά του ιού του PRRS που διατίθενται στην ελληνική αγορά (Πίνακας 5):

α) Εμβόλιο 1 (VAC1) – Porcillis® PRRS (MSD Animal Health, στέλεχος DV),

β) Εμβόλιο 2 (VAC2) – UniStrain® PRRS (Hipra, στέλεχος VP- 046 BIS),

γ) Εμβόλιο 3 (VAC3) – ReproSyc® PRRS (Boehringer Ingelheim Vetmedica, στέλεχος 94881) και

δ) Εμβόλιο 4 (VAC4) – Suvaxyn® PRRS (Zoetis, στέλεχος 96V198)

Τα ζώα της κάθε ομάδας του πειραματισμού στεγάστηκαν σε ξεχωριστούς θαλάμους του κτιρίου των σιών σε κυοφορία. Τα κελιά διαβίωσής τους είχαν, προηγουμένως, καθαριστεί, πλυθεί και απολυμανθεί επιμελώς. Τα ζώα όλων των ομάδων διατηρήθηκαν υπό παρόμοιες συνθήκες όσον

αφορά στο κλίμα, τον εξαερισμό, τη θερμοκρασία και την υγρασία του χώρου. Ακολούθως, τα ζώα μεταφέρονταν, 5 ημέρες περίπου πριν τον αναμενόμενο τοκετό τους, στα κελιά ατομικού ενσταβλισμού των κτιρίων τοκετών-γαλουχίας, όπου, αντίστοιχα, είχε πραγματοποιηθεί καθαρισμός και επιμελής απολύμανση, ενώ είχε προηγηθεί υγειονομικό κενό 7 ημερών.

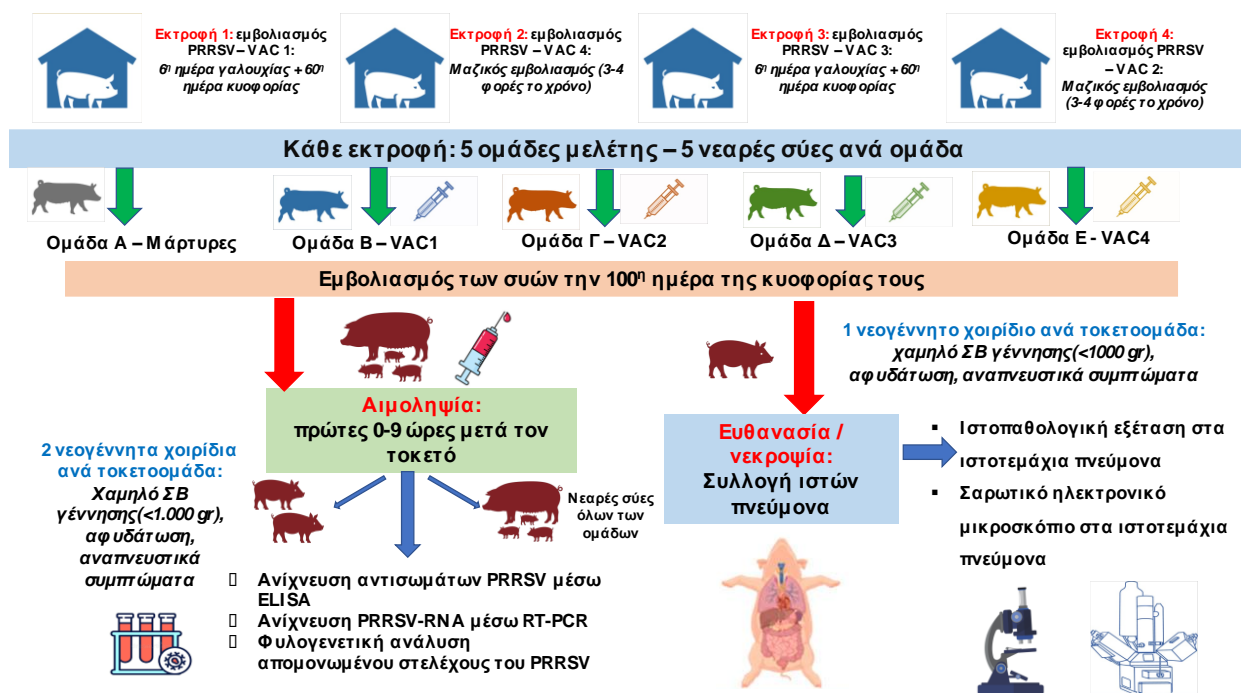
Πραγματοποιούνταν καθημερινή, ατομική κλινική εξέταση όλων των σιών της μελέτης, ξεκινώντας την ημέρα πριν από τον εμβολιασμό τους (99<sup>η</sup> ημέρα της κύησης τους) μέχρι την ημέρα του τοκετού. Η κλινική εξέταση σιών περιελάμβανε αξιολόγηση της συμπεριφοράς, παρουσία τυχόν αναπνευστικών συμπτωμάτων και επιθυμία κατανάλωσης της παρατιθέμενης τροφής. Κατά τη διάρκεια του τοκετού, στα νεογέννητα χοιρίδια των σιών πραγματοποιούνταν, καθημερινή, κλινική εξέταση, ξεκινώντας από την ημέρα γέννησης μέχρι την ημέρα απογαλακτισμού τους. Η κλινική εξέταση περιελάμβανε αξιολόγηση της συμπεριφοράς, εκτίμηση του βαθμού αφυδάτωσης και τυχόν αναπνευστικών ή/και νευρολογικών συμπτωμάτων. Η αξιολόγηση της κλινικής εικόνας και της συμπεριφοράς των ζώων πραγματοποιήθηκε από ερευνητή ο οποίος δε γνώριζε για την κατανομή των σιών στις διάφορες ομάδες μελέτης.

**Πίνακας 5.** Ομάδες πειραματισμού και σχεδιασμός μελέτης.

Εκτροφές πειραματισμού	Ομάδα	Εμβολιασμός την 100 <sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας
<b>Εκτροφή 1</b> (Οι νεαρές σύες αντικατάστασης είχαν εμβολιαστεί με το εμβολιακό στέλεχος του VAC1 την 180 <sup>η</sup> + 210 <sup>η</sup> ημέρα ζωής τους + την 60 <sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας τους)	A	-
	B	Εμβόλιο 1 (VAC1)- εμβολιακό στέλεχος DV
	C	Εμβόλιο 2 (VAC2)- εμβολιακό στέλεχος VP-046 BIS
	D	Εμβόλιο 3 (VAC3)- εμβολιακό στέλεχος 94881
	E	Εμβόλιο 4 (VAC4)- εμβολιακό στέλεχος 96V198

<b>Εκτροφή 2</b>  (Οι νεαρές σύες αντικατάστασης είχαν εμβολιαστεί με το εμβολιακό στέλεχος του VAC4 την 180 <sup>η</sup> + 210 <sup>η</sup> ημέρα ζωής τους + την 65 <sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας τους)	A	-
	B	Εμβόλιο 1 (VAC1)- εμβολιακό στέλεχος DV
	C	Εμβόλιο 2 (VAC2)- εμβολιακό στέλεχος VP- 046 BIS
	D	Εμβόλιο 3 (VAC3)- εμβολιακό στέλεχος 94881
	E	Εμβόλιο 4 (VAC4)- εμβολιακό στέλεχος 96V198
<b>Εκτροφή 3</b>  (Οι νεαρές σύες αντικατάστασης είχαν εμβολιαστεί με το εμβολιακό στέλεχος του VAC3 την 180 <sup>η</sup> + 210 <sup>η</sup> ημέρα ζωής τους + την 60 <sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας τους)	A	-
	B	Εμβόλιο 1 (VAC1)- εμβολιακό στέλεχος DV
	C	Εμβόλιο 2 (VAC2)- εμβολιακό στέλεχος VP- 046 BIS
	D	Εμβόλιο 3 (VAC3)- εμβολιακό στέλεχος 94881
	E	Εμβόλιο 4 (VAC4)- εμβολιακό στέλεχος 96V198
<b>Εκτροφή 4</b>  (Οι νεαρές σύες αντικατάστασης είχαν εμβολιαστεί με το εμβολιακό στέλεχος του VAC2 την 180 <sup>η</sup> + 210 <sup>η</sup> ημέρα ζωής τους + την 75 <sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας τους)	A	-
	B	Εμβόλιο 1 (VAC1)- εμβολιακό στέλεχος DV
	C	Εμβόλιο 2 (VAC2)- εμβολιακό στέλεχος VP- 046 BIS
	D	Εμβόλιο 3 (VAC3)- εμβολιακό στέλεχος 94881
	E	Εμβόλιο 4 (VAC4)- εμβολιακό στέλεχος 96V198





**Εικόνα 8.** Γραφική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού, των δειγματοληψιών και των εργαστηριακών εξετάσεων που πραγματοποιήθηκαν.

### 2.3. Παράμετροι που καταγράφηκαν

Οι σύες, αρχικά, εξετάστηκαν για την εμφάνιση τοπικών αντιδράσεων στο σημείο της έγχυσης του εμβολίου την ημέρα του εμβολιασμού 0, 1 και 4 ώρες μετά τον εμβολιασμό και στη συνέχεια, καθημερινά μέχρι την ημέρα του τοκετού. Τα σημεία χορήγησης των εμβολίων εξετάστηκαν για ερυθρότητα, οίδημα, θερμότητα και πόνο κατά την ψηλάφηση. Επιπλέον, έγινε καταγραφή των αναπαραγωγικών τους παραμέτρων και συγκεκριμένα:

- Ημερομηνία τοκετού.
- Διάρκεια τοκετού.
- Αποβολή.
- Επιστροφή σε οίστρο.
- Αριθμός ζωντανών χοιριδίων ανά τοκετό.
- Αριθμός νεκρών χοιριδίων ανά τοκετό.
- Αριθμός μουμιοποιημένων χοιριδίων ανά τοκετό.

- Αριθμός ελλιποβαρών χοιριδίων ανά τοκετό (Σωματικό Βάρος, Σ.Β. < 1000 gr).

Ακολούθως, σε κάθε τοκετοομάδα που προέκυψε από τις σύες του πειραματισμού, καταγράφηκαν τα παρακάτω:

- Αριθμός χοιριδίων με απαγωγή των άκρων (spray- leg).
- Αριθμός χοιριδίων με εμφάνιση αναπνευστικών συμπτωμάτων.
- Αριθμός χοιριδίων με εμφάνιση πεπτικών συμπτωμάτων.

#### **2.4. Δειγματοληψία**

Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού συλλέχθηκαν δείγματα αίματος και ιστών. Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν στις σύες τις πρώτες 2 ώρες μετά τον τοκετό (25 νεαρές σύες αντικατάστασης από κάθε εκτροφή, συνολικά 100 δειγμάτων αίματος,  $25 \times 4 = 100$ ).

Επιπλέον, δείγματα αίματος λήφθηκαν από δύο νεογέννητα χοιρίδια κάθε τοκετοομάδας των συών του πειραματισμού. Στα κριτήρια επιλογής των χοιριδίων, στα οποία επρόκειτο να διενεργηθεί αιμοληψία, περιλαμβάνονταν το χαμηλό ΣΒ γέννησης (< 1.000 gr), η αφυδάτωση και η παρουσία αναπνευστικών συμπτωμάτων. Η δειγματοληψία διενεργήθηκε τις πρώτες ώρες μετά τη γέννησή τους (50 χοιρίδια / εκτροφή - σύνολο 200 δειγμάτων αίματος,  $50 \times 4 = 200$ ) και παράλληλα καταγράφηκε ο χρόνος μεταξύ της γέννησης τους και της αιμοληψίας τους. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το πρωτόγαλα αποτελεί τη μοναδική οδό ανοσοποίησης των νεογέννητων χοιριδίων έγινε προσπάθεια η δειγματοληψία τους να πραγματοποιηθεί προτού θηλάσουν προκειμένου να διερευνηθεί η *de novo* παραγωγή αντισωμάτων σε αυτά (Butler και συν. 2001, Navarro και συν. 2001, Guzman- Bautista και συν. 2013, Hsueh και συν. 2021). Για την επίτευξη αυτού του σκοπού, τα χοιρίδια μετά τη γέννησή τους απομονώνονταν στον χώρο ανάπαυσης των χοιριδίων με τη θερμαντική πηγή, όπου λάμβαναν χώρα οι χειρισμοί περιποίησης αυτών (στέγνωμα, κοπή ομφάλιου λώρου). Μετά το πέρας του τοκετού, πραγματοποιούταν η τελική επιλογή των χοιριδίων που θα συμμετείχαν στον πειραματισμό, σύμφωνα με τα κριτήρια που αναφέρθηκαν παραπάνω, η αιμοληψία αυτών και τέλος η σήμανση τους με τη χρήση αριθμημένων ενωτίων. Ακολούθως, αφήνονταν ελεύθερα να κατεθιγούν προς τις θηλές της σύος προκειμένου να λάβουν πρωτόγαλα. Η δειγματοληψία της πλειοψηφίας των χοιριδίων πραγματοποιήθηκε κυρίως μέσα στις πρώτες 3 ώρες από τη γέννησή τους, δίχως να έχουν προλάβει

να θηλάσουν. Εξαιρέση αποτέλεσαν τα χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που γέννησαν κατά τις βραδινές ώρες και δεν ήταν εφικτοί οι παραπάνω χειρισμοί. Στις τοκετοομάδες αυτές επιλέχθηκαν χοιρίδια για δειγματοληψία με βάση το χαμηλότερο ΣΒ και την εμφάνιση αναπνευστικών συμπτωμάτων. Τα χοιρίδια που επιλέγονταν για δειγματοληψία σημάνθηκαν με αριθμημένα ενώτια. Οι αιμοληψίες πραγματοποιούνταν από την πρόσθια κοίλη φλέβα με σύριγγα των 10ml, στην οποία ήταν προσαρμοσμένη βελόνα 14G, μήκους 80mm, και 19G, μήκους 25mm για τις σύς και τα νεογέννητα χοιρίδια, αντίστοιχα. Όλα τα δείγματα αίματος φυγοκεντρήθηκαν (3000 στροφές/min για 10 min) προκειμένου να επιτευχθεί διαχωρισμός του ορού. Η ποσότητα του ορού, που συλλεγόταν, συσκευάστηκε σε 2 φιαλίδια, στα οποία αναγράφηκε ο αριθμός του ενωτίου σήμανσης του ζώου, από το οποίο προήλθε, και διατηρήθηκε στους -80°C. Το ένα φιαλίδιο ορού στάλθηκε για τις απαιτούμενες ορολογικές εξετάσεις στο κτηνιατρικό διαγνωστικό κέντρο HIPRA DIAGNOS (Laboratorios Hipra, Girona, Spain), ενώ το άλλο παρέμεινε ως εφεδρικό αντιδείγμα στην Παθολογική Κλινική του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η συλλογή δειγμάτων πνεύμονα πραγματοποιήθηκε έπειτα από ευθανασία και νεκροτομή σε χοιρίδια, που παρουσίαζαν μη ικανοποιητική κλινική κατάσταση (αναπνευστικά συμπτώματα, χαμηλό ΣΒ γέννησης και αφυδάτωση). Η ευθανασία πραγματοποιήθηκε με τη χορήγηση 0,2ml/kg Σ.Β. πεντοβαρβιτάλης (Exagon® Richter pharma ag) στην πρόσθια κοίλη φλέβα. Ακολούθησε διενέργεια νεκροτομής, κατά τη διάρκεια της οποίας συλλέχθηκαν δείγματα πνεύμονα στηριζόμενοι στην έρευνα των Lunney και συν. (2016) που ανέφεραν ότι την αρχική μόλυνση των χοίρων από τον PRRSV, ακολουθεί ο εντοπισμός και πολλαπλασιασμός του, κυρίως, στους πνεύμονες.

## **2.5. Εργαστηριακές εξετάσεις**

### **2.5.1. Εξετάσεις ορού αίματος**

#### **2.5.1.1. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV**

Στα δείγματα ορού αίματος διενεργήθηκαν εργαστηριακές εξετάσεις για την ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος του PRRSV. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ανάστροφης μεταγραφάσης (SYBR Green Reti RT-PCR). Κατά την εφαρμογή της χρησιμοποιήθηκαν ο θερμικός κυκλοποιητής ABI Prism® 7000 Sequence Detection System (Applied

Biosystems, CA, USA) και τα ειδικά διαγνωστικά κιτ QuantiTect™ SYBR® Green RT-PCR. Τα κιτ περιελάμβαναν εκχύλισμα ορού αίματος, το οποίο συλλέχθηκε από τα δείγματα που προσκομίστηκαν για εξετάσεις, σε συνδυασμό με συγκεκριμένη ποσότητα ειδικών εκκινητών και ειδικού μίγματος QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master Mix. Ακολούθως, τοποθετήθηκαν στο θερμικό κυκλοποιητή, προκειμένου να ξεκινήσει η διαδικασία. Αρχικά, ο κυκλοποιητής προθερμάνθηκε στους 95°C για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, ξεκίνησε η διαδικασία της αντίδρασης RT-PCR, αποτελούμενη από τρία διαφορετικά στάδια:

α) Στάδιο αποδιάταξης, όπου η αντίδραση θερμάνθηκε στους 94°C για 1 λεπτό.

β) Στάδιο υβριδισμού εκκινητών, κατά το οποίο η αντίδραση ψύχθηκε στους 60°C για 1 λεπτό.

γ) Στάδιο επιμήκυνσης εκκινητών, το οποίο πραγματοποιήθηκε στους 72°C για 1 λεπτό.

Ακολούθως, πραγματοποιήθηκε επανάληψη των παραπάνω σταδίων 40 φορές (40 κύκλοι), προκειμένου να προκύψει και το τελικό αποτέλεσμα, θετικό ή αρνητικό στην ανίχνευση του νουκλεϊκού οξέος του PRRSV. Ολόκληρη η εργαστηριακή διαδικασία έλαβε χώρα στο Κτηνιατρικό Διαγνωστικό Κέντρο HIPRA DIAGNOS (Laboratorios Hipra, Girona, Spain).

#### **2.5.1.2 Φυλογενετική ανάλυση του απομονωμένου στελέχους του ιού**

Σε περίπτωση ανίχνευσης του νουκλεϊκού οξέος του ιού στα δείγματα ορών, ακολουθούσε η διενέργεια φυλογενετικής ανάλυσης του στελέχους που απομονώθηκε. Το στέλεχος, αρχικά, έπρεπε να καθαριστεί από διάφορα υπολείμματα, όπως οι εκκινητές και το ειδικό μίγμα QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master Mix, που είχαν, προηγουμένως, χρησιμοποιηθεί στη διαδικασία της RT-PCR. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του ειδικού κιτ RNeasy Mini (Qiagen, Germany) σε ειδική συσκευή (Qiacube, Qiagen), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Στη συνέχεια, μετά και τη λήψη του καθαρού στελέχους, εφαρμόστηκε η μεθοδολογία Sanger. Για τον σκοπό αυτό ετοιμάστηκε το πιάτο αλληλουχίας (sequencing plate) που αποτελεί το τελικό στάδιο πριν την έναρξη της διαδικασίας της αλληλούχισης. Σε αυτό προστέθηκαν, σε επιλεγμένες ποσότητες, το καθαρό στέλεχος που είχε απομονωθεί και οι εκκινητές που είχαν χρησιμοποιηθεί, πρωτίτερα, στη RT-PCR. Ακολούθησε η ανάλυση των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών, η οποία πραγματοποιήθηκε με τη χρήση

του λογισμικού Geneious Pro (Biomatters, Ltd. New Zealand). Ολόκληρη η εργαστηριακή διαδικασία έλαβε χώρα στο Κτηνιατρικό Διαγνωστικό Κέντρο DIAGNOS (Laboratorios Hípra, Ισπανία).

### **2.5.1.3 Ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων κατά του PRRSV**

Τα δείγματα ορού που συλλέχθηκαν υποβλήθηκαν σε περαιτέρω εξετάσεις για την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων κατά του PRRSV. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν έμμεσες δοκιμές ELISA, με τη χρήση των εμπορικών κιτ CIVTEST SUIS PRRS E/S<sup>®</sup> PLUS και CIVTEST SUIS A/S<sup>®</sup> (Laboratorios Hípra, Ισπανία), τα οποία έχουν σχεδιαστεί για να ανιχνεύουν κυκλοφορούντα αντισώματα έναντι ευρωπαϊκών και αμερικανικών στελεχών του ιού, αντίστοιχα. Οι διαδικασίες δοκιμής και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν ακολουθώντας τις οδηγίες του παρασκευαστή. Δείγματα με σχετικό δείκτη S/P (sample-to-positive)  $\geq 0.20$  θεωρήθηκαν θετικά.

### **2.5.2. Μικροσκοπικές εξετάσεις**

#### **2.5.2.1. Ιστοπαθολογικές εξετάσεις**

Όπως προαναφέρθηκε από χοιρίδια στα οποία έγινε ευθανασία και νεκροτομή πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία ιστοτεμαχίων για ιστοπαθολογική εξέταση. Τα ιστοτεμάχια παρέμειναν προκειμένου να μονιμοποιηθούν, σε ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10% για 48 με 72 ώρες. Στην συνέχεια, υπέστησαν αφυδάτωση με εμβάπτιση σε σειρά διαλυμάτων αλκοόλης και διαύγαση με εμβάπτιση σε σειρά λουτρών ξυλόλης και εγκλείστηκαν σε παραφίνη (Paraplast Plus<sup>®</sup>, Kendall, England). Μετά την εγκλείσή τους σε παραφίνη, λήφθηκαν τομές πάχους 4-6  $\mu\text{m}$ . Οι τομές χρωματίστηκαν με τις μεθόδους αιματοξυλίνης και εωσίνης (H&E) για τη γενική εκτίμηση των δειγμάτων αλλά και με τη μέθοδο Martius Scarlet Blue (MSB) για καλύτερη απεικόνιση μεμβρανών υαλίνης.

### **2.5.2.2. Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (ΗΜΣ)**

Τα ιστοτεμάχια πνεύμονα που συλλέχθηκαν εξετάστηκαν και με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (ΗΜΣ). Τα δείγματα παρέμειναν προκειμένου να μονιμοποιηθούν σε ρυθμιστικό διάλυμα γλουταραλδεϋδης 2,5% και σε θερμοκρασία 4°C μέχρι να υποβληθούν σε επεξεργασία για την ηλεκτρονική μικροσκόπηση. Ακολούθως και προκειμένου τα δείγματα να καταστούν κατάλληλα για να παρατηρηθούν στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, αφυδατώθηκαν σε μια σειρά ακετόνης, ξηράνθηκαν με χρήση διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>), τοποθετήθηκαν στη βάση του δείγματος, επικαλύφθηκαν με χρυσό σε πάχος 14 nm και εν τέλει παρατηρήθηκαν υπό επιταχυνόμενη τάση 10,0 Κίλοβολτ (Kv) στο Cambridge Stereoscan 360° Scanning Electron Microscopy (SEM). Οι αναλύσεις διενεργήθηκαν στο εργαστήριο Athens Innovative Microscopy (AIM) από τον Δρ. Γιώργο Νίκα.

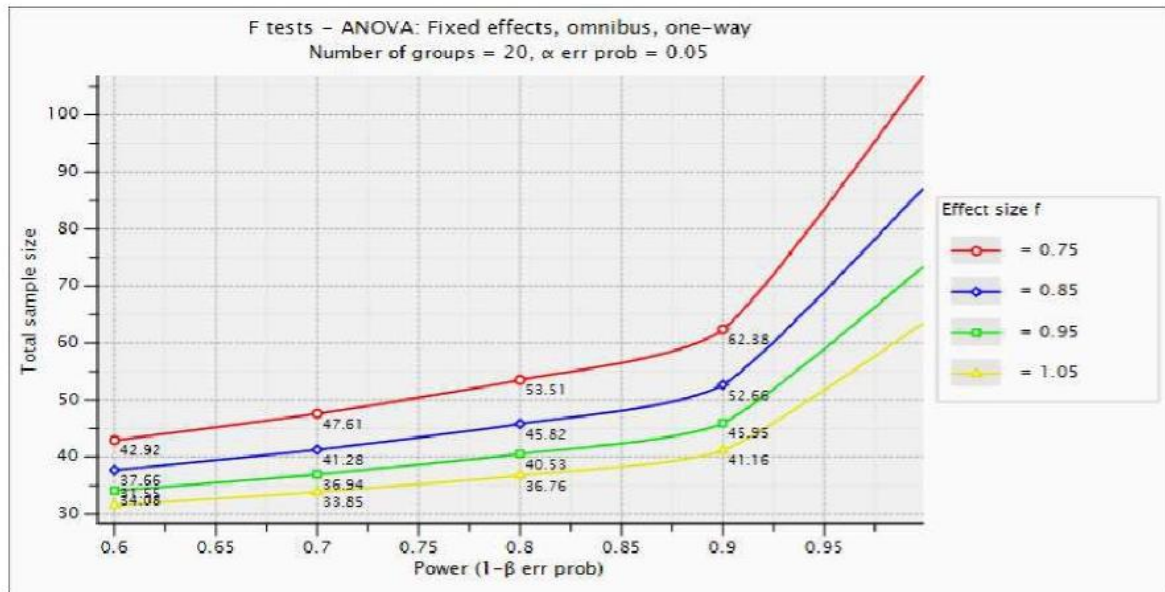
## **3. Περιγραφή των δεδομένων**

### **3.2. Εξαρτημένη μεταβλητή**

Συλλέχθηκαν δεδομένα 100 ζώων, σχετικά με τα αναπαραγωγικά τους χαρακτηριστικά (Γράφημα 1). Τα περιγραφικά στατιστικά στοιχεία για κάθε μετρούμενη μεταβλητή παρουσιάζονται στους Πίνακες 6, 7 και 8. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε σύς και τα χοιρίδια τους από τέσσερις διαφορετικές εκτροφές (25 σύες από κάθε μία), οι οποίες εφαρμόζουν εμβολιασμό κατά του PRRSV με τη χρήση διαφορετικού ΕΛΔ εμβολίου. Αναλυτικά, στην Εκτροφή 1 εφαρμόζονταν εμβολιασμοί με το "VAC1", στην Εκτροφή 2 με το "VAC4", στην Εκτροφή 3 με το "VAC3" και στην Εκτροφή 4 με το "VAC2". Περαιτέρω, οι 25 σύες κάθε εκτροφής χωρίστηκαν τυχαία (<https://www.random.org/sequences/>) σε 5 ομάδες [δηλαδή, πέντε σύες ανά ομάδα / εκτροφή], όπου σε κάθε ομάδα εφαρμόστηκε εμβολιασμός με ένα δεύτερο διαφορετικό ΕΛΔ εμβόλιο. Συγκεκριμένα, η ομάδα μελέτης Α ήταν η ομάδα μαρτύρων, η ομάδα Β έλαβε το «VAC1», η ομάδα C το «VAC2», η ομάδα D το «VAC3» και η ομάδα E το «VAC4».

Με βάση τον αριθμό των διαφορετικών ομάδων - groups [20 ομάδες για τις σύς / 100 για τα χοιρίδια] και το σφάλμα τύπου I (a-error) [ $\alpha = 0.05$ ] υπολογίστηκε το απαιτούμενο μέγεθος δείγματος για τις σύς (100) και τα χοιρίδια (200), αντίστοιχα. Εφόσον οι υπό εξέταση μεταβλητές είχαν ως τιμές 0 (OXI) και 1 (NAI), το μέγεθος επίδρασης (effect size) ορίστηκε ίσο με 1, αλλά στα γραφήματα

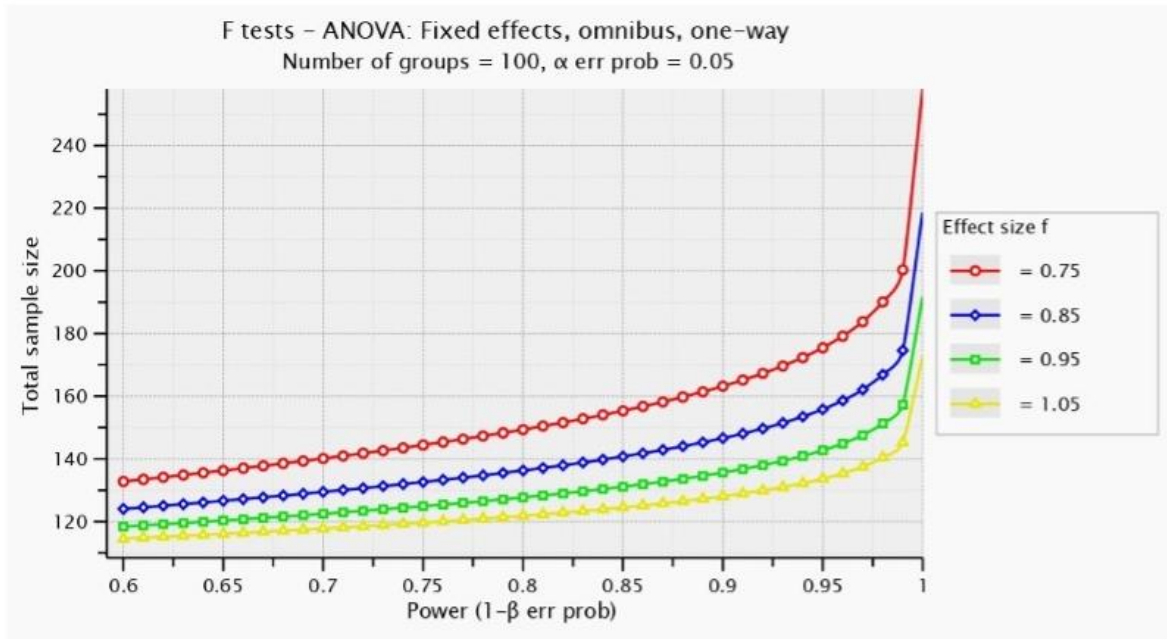
παρουσιάζεται πως αλλάζει το συνολικό μέγεθος του δείγματος (total sample size) για τιμές του effect size από 0.75 έως 1.05. Σε κάθε περίπτωση με συνολικό μέγεθος δείγματος 100 για τις χοιρομητέρες και 200 για τα χοιρίδια επιτυγχάνεται ικανοποιητική ισχύς (80%) της μελέτης. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν με το συγκεκριμένο συνολικό μέγεθος δείγματος χρησιμοποιήθηκαν για περιγραφική στατιστική (descriptive statistics).



**Γράφημα 1.** Εκτίμηση μεγέθους δείγματος για τις σύς (n=100) που συμμετείχαν στον πειραματισμό.

Οι τιμές αντισωμάτων από συνολικά 200 δείγματα ορών από χοιρίδια από τις 4 διαφορετικές χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις του πειραματισμού ήταν διαθέσιμες (Γράφημα 2). Συγκεκριμένα, έγινε δειγματοληψία σε 50 χοιρίδια από κάθε εκτροφή. Το προτεινόμενο, από την εταιρεία, κρίσιμο σημείο θετικότητας ήταν το 20. Η μεταβλητή στόχος (εξαρτημένη μεταβλητή) ήταν το επίπεδο αντισωμάτων και τα δεδομένα μεταμορφώθηκαν με την  $\log(x+1)$  συνάρτηση.

Ο Πίνακας 11 συνοψίζει τα στατιστικά χαρακτηριστικά των μη-μεταμορφωμένων τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής, ενώ το γράφημα 4 αναπαριστά την κατανομή των τιμών των αντισωμάτων. Το γράφημα δημιουργήθηκε μέσω της συνάρτησης “ggplot” του πακέτου “ggplot2” (Wickham 2016), στη γλώσσα προγραμματισμού R (R Core Team 2019).



**Γράφημα 2.** Εκτίμηση μεγέθους δείγματος για τον αριθμό των χοιριδίων ( $n=200$ ) που συμμετείχαν στον πειραματισμό.

### 3.2. Ανεξάρτητες μεταβλητές / Παράγοντες επικινδυνότητας

Οι μεταβλητές που προσμετρήθηκαν για την αξιολόγηση της αναπαραγωγικής απόδοσης των σுவών και της κλινικής απόδοσης των χοιριδίων (και οι κατηγορίες τους) είναι οι εξής: πρόωρος τοκετός (0= Όχι, 1= Ναι), αποβολή (0= Όχι, 1= Ναι), χρονικό διάστημα εγκυμοσύνης, αριθμός συνολικών γεννημένων, ζωντανών γεννημένων, νεκρών, μουμιοποιημένων χοιριδίων και ελλιποβαρών χοιριδίων, αριθμός χοιριδίων που παρουσίαζαν απαγωγή άκρων (spray-leg)/αναπνευστικά συμπτώματα.

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που ελέγχθηκαν ως πιθανοί παράγοντες επικινδυνότητας για το επίπεδο αντισωμάτων ήταν (i) το διωνυμικό αποτέλεσμα της διαγνωστικής δοκιμής RT-PCR (ii) το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε από τη γέννηση του χοιριδίου μέχρι τη δειγματοληψία (Hour\_birth). Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, κάθε δείγμα εξετάστηκε με τη μέθοδο της RT-PCR και ένα διωνυμικό αποτέλεσμα ήταν διαθέσιμο (δηλαδή αρνητικό  $\rightarrow$  0, θετικό  $\rightarrow$  1).

Επιπρόσθετα, το χρονικό διάστημα (σε ώρες) που μεσολάβησε από τη γέννηση του χοιριδίου και την συλλογή του δείγματος ήταν διαθέσιμο σε μορφή κατηγοριών [0 – 3 ώρες  $\rightarrow$  0, 3 – 6 ώρες  $\rightarrow$



1, > 6 ώρες → 2]. Η πλειοψηφία των δειγμάτων που συλλέχθηκαν ήταν από χοιρίδια ηλικίας άνω των 6 ωρών.

### **3.3. Στατιστική ανάλυση**

Στόχος της ανάλυσης είναι να βρεθεί η εξίσωση που θα προβλέπει/υπολογίζει το επίπεδο αντισωμάτων, με βάση τις στατιστικώς σημαντικές ανεξάρτητες μεταβλητές. Ένα μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης είναι της μορφής:

$$y = X * \beta + \varepsilon (I),$$

όπου  $y$  είναι η εξαρτημένη μεταβλητή,  $X$  ο πίνακας των στατιστικώς σημαντικών μεταβλητών,  $\beta$  το διάνυσμα παραμέτρων και  $\varepsilon$  μια μεταβλητή που μετρά το σφάλμα (υπόλοιπο), δηλαδή τον «θόρυθο» μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής – στόχος και των μεταβλητών παλινδρόμησης/πρόβλεψης (Montgomery και συν. 2021).

Όλες οι υποψήφιες μεταβλητές εξετάστηκαν αρχικά, μία προς μία, με επίπεδο σημαντικότητας 0.25 (p-value). Μεταβλητές με p-value < 0.25 προστέθηκαν έπειτα στο τελικό μοντέλο, το οποίο ελαττώθηκε με την προς τα πίσω μέθοδο της εξάλειψης έως ότου να παραμείνουν μόνο στατιστικώς σημαντικές μεταβλητές (p-value < 0.05).

Ο συντελεστής  $\beta$  αναπαριστά πως η μεταβολή μιας ανεξάρτητης μεταβλητής επηρεάζει την τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής, εάν όλες οι υπόλοιπες ανεξάρτητες μεταβλητές του τελικού μοντέλου παραμείνουν σταθερές. Επίσης, εκτός από την τιμή του συντελεστή  $\beta$  υπολογίστηκε και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης ( $\Delta E$ ).

### **3.4. Ανάλυση Ευαισθησίας**

Οι περισσότεροι δυνητικοί παράγοντες επικινδυνότητας είναι διακριτές μεταβλητές με εύρος τιμών πάνω από δύο επίπεδα. Με βάση το 0.05 επίπεδο σημαντικότητας στο τελικό μοντέλο (0.25 στον αρχικό έλεγχο), εάν το ένα επίπεδο είχε πιθανότητα (p-value) μεγαλύτερη του επιπέδου σημαντικότητας, ενώ οι πιθανότητες των υπολοίπων επιπέδων της μεταβλητής είναι μικρότερες του επιπέδου σημαντικότητας, τότε η μεταβλητή θεωρείται στατιστικώς σημαντική. Επιπρόσθετα, εξετάστηκε η ομαδοποίηση των επιπέδων της ανεξάρτητης μεταβλητής (Γράφημα 5).



# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β**

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

## 1. Κλινικά ευρήματα

### 1.1. Επιπτώσεις από τον εμβολιασμό των σιών- άμεση τοπική και κλινική αντίδραση

Στην παρούσα μελέτη δεν καταγράφηκαν διαταραχές τόσο στη συμπεριφορά όσο και στην κατάσταση της υγείας των εμβολιασμένων σιών. Επίσης, κατά την κλινική εξέταση των σιών δεν διαπιστώθηκε κάποια τοπική αντίδραση στο σημείο έγχυσης των εμβολίων.

### 1.2. Εκτίμηση αναπαραγωγικών παραμέτρων των σιών

#### 1.2.1. Διάρκεια κυοφορίας

Στον Πίνακα 6 δίνεται η μέση διάρκεια κυοφορίας όλων των σιών του πειραματισμού. Από την ανάλυση των στοιχείων διαπιστώθηκε ότι η πλειοψηφία των σιών γέννησε φυσιολογικά (> 113 ημέρες κυοφορίας). Εξαιρέσεις αποτέλεσαν μία σύς από την εκτροφή 1, που ανήκε στην ομάδα μελέτης Γ, η οποία γέννησε την 112<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας της, καθώς και ακόμη μία από την εκτροφή 2, που ανήκε στην ομάδα μελέτης Δ, η οποία γέννησε την 113<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας της.

**Πίνακας 6.** Μέση διάρκεια κυοφορίας των σιών του πειραματισμού [μέση τιμή (ελάχιστο-μέγιστο)].

Εκτροφές πειραματισμού	Ομάδες μελέτης	Διάρκεια κυοφορίας (ημέρες)
Εκτροφή 1	A	118.4 (117 - 119)
	B	117.4 (116 - 119)
	Γ	114.2 (112 - 116)
	Δ	116.8 (116 - 118)
	E	119.2 (118 - 120)
Εκτροφή 2	A	117.0 (116 - 118)
	B	117.0 (116 - 118)
	Γ	117.0 (116 - 118)
	Δ	114.8 (113 - 117)
	E	116.2 (115 - 118)

<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	116.6 (116 - 117)
	<b>B</b>	116.4 (116 - 117)
	<b>Γ</b>	116.6 (115 - 119)
	<b>Δ</b>	117.0 (116 - 118)
	<b>E</b>	117.0 (116 - 118)
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	117.4 (117 - 118)
	<b>B</b>	117.4 (117 - 118)
	<b>Γ</b>	116.4 (116 - 117)
	<b>Δ</b>	117.4 (117 - 118)
	<b>E</b>	117.0 (116 - 118)

### **1.2.2. Αποβολές**

Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού δεν διαπιστώθηκαν αποβολές στις σύς που συμμετείχαν σε αυτόν.

### **1.3. Χαρακτηριστικά τοκετοομάδων**

#### **1.3.1. Μέσος αριθμός γεννηθέντων χοιριδίων**

Ο μέσος αριθμός γεννηθέντων χοιριδίων των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 7. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε μειωμένος αριθμός των συνολικών γεννηθέντων χοιριδίων στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 2 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ, αλλά δεν υπήρξε στατιστική σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 7.** Μέσος αριθμός συνολικών γεννηθέντων χοιριδίων των συών του πειραματισμού [μέση τιμή (ελάχιστο-μέγιστο)].

<b>Εκτροφές πειραματισμού</b>	<b>Ομάδες μελέτης</b>	<b>Μέσος αριθμός γεννηθέντων χοιριδίων</b>
<b>Εκτροφή 1</b>	<b>A</b>	17.4 (16 - 19)
	<b>B</b>	15.6 (13 - 19)
	<b>Γ</b>	14.0 (10 - 17)
	<b>Δ</b>	10.8 (8 - 13)
	<b>E</b>	16.8 (15 - 18)
<b>Εκτροφή 2</b>	<b>A</b>	18.2 (17 - 19)
	<b>B</b>	12.0 (8 - 16)
	<b>Γ</b>	17.4 (16 - 19)
	<b>Δ</b>	7.6 (6 - 9)
	<b>E</b>	15.8 (12 - 20)
<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	14.4 (13 - 16)
	<b>B</b>	14.4 (13 - 16)
	<b>Γ</b>	14.0 (12 - 16)
	<b>Δ</b>	14.0 (13 - 15)
	<b>E</b>	15.4 (14 - 17)
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	14.6 (13 - 17)
	<b>B</b>	13.0 (11 - 15)
	<b>Γ</b>	12.6 (11 - 15)
	<b>Δ</b>	14.4 (13 - 16)
	<b>E</b>	16.4 (15 - 18)

### 1.3.2. Μέσος αριθμός ζωντανών γεννηθέντων χοιριδίων

Ο μέσος αριθμός των ζωντανών γεννηθέντων χοιριδίων των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 8. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε μειωμένος αριθμός ζωντανών γεννηθέντων χοιριδίων στις τοκετοομάδες των συών των ομάδων μελέτης Γ και Δ στην εκτροφή 1 και στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 2 που ανήκαν στις ομάδες μελέτης Β και Δ. Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά.

### 1.3.3. Μέσος αριθμός ελλιποβαρών χοιριδίων (Σ.Β. <1.000 gr).

Ο μέσος αριθμός των ελλιποβαρών χοιριδίων των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 8. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε αυξημένος αριθμός ελλιποβαρών χοιριδίων των συών της εκτροφής 1 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ και στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 2 που ανήκαν στις ομάδες μελέτης Γ, Δ και Ε. Η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικώς σημαντική.

### 1.3.4. Μέσος αριθμός μουμιοποιημένων χοιριδίων

Ο μέσος αριθμός των μουμιοποιημένων χοιριδίων των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 8. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε αυξημένος αριθμός μουμιοποιημένων χοιριδίων των συών της ομάδας μελέτης Γ στην εκτροφή 1, δίχως όμως να είναι στατιστικώς σημαντική.

**Πίνακας 8.** Μέσος αριθμός ζωντανών γεννηθέντων/ ελλιποβαρών/ μουμιοποιημένων χοιριδίων των συών του πειραματισμού [μέση τιμή (ελάχιστο-μέγιστο)].

Εκτροφές πειραματισμού	Μέσος αριθμός χοιριδίων			
	Ομάδες μελέτης	ζωντανών γεννηθέντων	ελλιποβαρών (Σ.Β. <1000 gr)	μουμιοποιημένων
Εκτροφή 1	A	16.0 (14 - 18)	0.8 (0 - 1)	0.0 (0 - 0)
	B	13.4 (11 - 17)	1.6 (1 - 3)	0.4 (0 - 1)
	Γ	9.8 (7 - 12)	3.0 (2 - 4)	2.0 (1 - 3)
	Δ	8.8 (7 - 10)	1.6 (1 - 2)	0.4 (0 - 1)
	E	15.0 (14 - 16)	2.0 (0 - 4)	0.0 (0 - 0)

<b>Εκτροφή 2</b>	<b>A</b>	16.4 (16 - 17)	1.4 (0 - 3)	0.0 (0 - 0)
	<b>B</b>	8.2 (5 - 11)	1.4 (1 - 2)	0.0 (0 - 0)
	<b>Γ</b>	12.4 (10 - 15)	2.4 (2 - 3)	0. (0 - 1)
	<b>Δ</b>	5.6 (4 - 7)	2.4 (2 - 3)	0.6 (0 - 1)
	<b>E</b>	14.6 (12 - 18)	2.4 (2 - 3)	0.0 (0 - 0)
<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	12.8 (12 - 14)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
	<b>B</b>	13.4 (12 - 15)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
	<b>Γ</b>	13.4 (11 - 16)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
	<b>Δ</b>	12.2 (11 - 13)	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)
	<b>E</b>	14.4 (14 - 15)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	13.0 (11 - 15)	0.6 (0 - 1)	0.0 (0 - 0)
	<b>B</b>	11.6 (10 - 13)	0.6 (0 - 1)	0.0 (0 - 0)
	<b>Γ</b>	11.0 (10 - 13)	0.6 (0 - 1)	0.0 (0 - 0)
	<b>Δ</b>	11.8 (10 - 14)	1.4 (1 - 2)	0.0 (0 - 0)
	<b>E</b>	14.0 (13 - 16)	1.0 (0 - 2)	0.0 (0 - 0)

#### **1.4. Εκτίμηση κλινικής εικόνας χοιριδίων**

##### **1.4.1. Μέσος αριθμός χοιριδίων με απαγωγή άκρων (spray- leg)**

Ο μέσος αριθμός των χοιριδίων που εμφάνιζαν απαγωγή των άκρων (spray-leg) των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 9. Από την ανάλυση των δεδομένων παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός χοιριδίων με απαγωγή των άκρων των συών της εκτροφής 1 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ, καθώς και στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 2 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ. Ωστόσο, η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικώς σημαντική.

##### **1.4.2. Μέσος αριθμός χοιριδίων με διαταραχές αναπνευστικού συστήματος**

Ο μέσος αριθμός χοιριδίων που εμφάνισαν διαταραχές του αναπνευστικού συστήματος σε των συών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 9. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε αυξημένος



αριθμός χοιριδίων με αναπνευστικά συμπτώματα (έντονη μορφή δύσπνοιας) των σιών της εκτροφής 1 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ και στις τοκετοομάδες των σιών της εκτροφής 2 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά.

#### 1.4.3. Μέσος αριθμός χοιριδίων με διαταραχές πεπτικού συστήματος

Ο μέσος αριθμός χοιριδίων που εμφάνισαν διαταραχές του πεπτικού συστήματος των σιών της μελέτης δίνεται στον Πίνακα 9. Από την ανάλυση των δεδομένων διαπιστώθηκε αυξημένος αριθμός χοιριδίων με πεπτικές διαταραχές (διάρροια) των σιών της εκτροφής 1 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ, αλλά και των σιών της εκτροφής 2 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Τέλος, δεν διαπιστώθηκαν άλλου είδους συμπτώματα (π.χ. έμετος).

**Πίνακας 9.** Μέσος αριθμός χοιριδίων με απαγωγή των άκρων τους (splay-leg) των σιών του πειραματισμού [μέση τιμή (ελάχιστο-μέγιστο)].

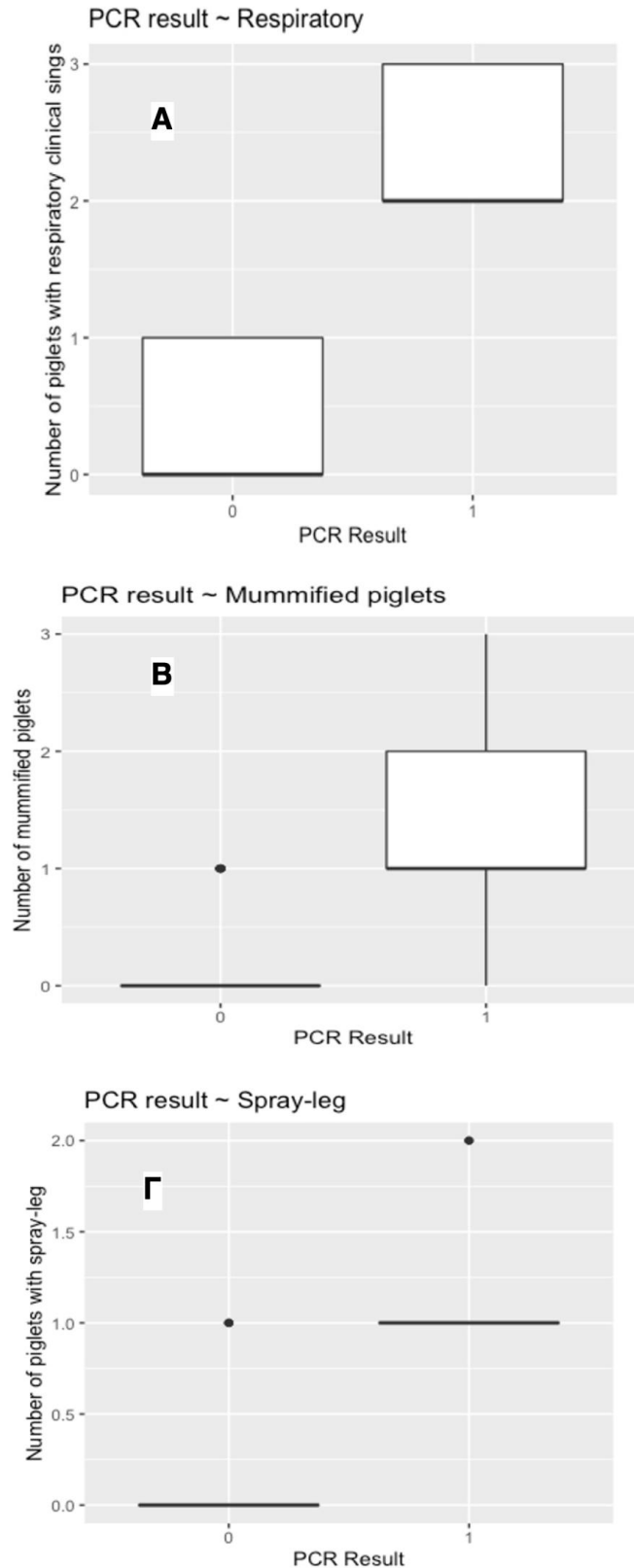
Εκτροφές πειραματισμού	Μέσος αριθμός χοιριδίων			
	Ομάδες μελέτης	απαγωγή των άκρων (splay-leg)	αναπνευστικά συμπτώματα	πεπτικά συμπτώματα
<b>Εκτροφή 1</b>	<b>A</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.8 (0 - 1)
	<b>B</b>	0.0 (0 - 0)	0.8 (0 - 1)	1.0 (1 - 1)
	<b>Γ</b>	1.2 (1 - 2)	2.4 (2 - 3)	2.0 (2 - 2)
	<b>Δ</b>	0.4 (0 - 1)	1.0 (1 - 1)	1.0 (1 - 1)
	<b>E</b>	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)	0.6 (0 - 1)
<b>Εκτροφή 2</b>	<b>A</b>	0.0 (0 - 0)	1.0 (1 - 1)	0.0 (0 - 0)
	<b>B</b>	0.0 (0 - 0)	1.0 (1 - 1)	1.0 (1 - 1)
	<b>Γ</b>	0.4 (0 - 1)	1.0 (1 - 1)	1.4 (1 - 2)
	<b>Δ</b>	1.2 (1 - 2)	2.4 (2 - 3)	2.0 (2 - 2)
	<b>E</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)

<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
	<b>B</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)
	<b>Γ</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)
	<b>Δ</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
	<b>E</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	0.0 (0 - 0)	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)
	<b>B</b>	0.0 (0 - 0)	0.4 (0 - 1)	0.6 (0 - 1)
	<b>Γ</b>	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)	0.6 (0 - 1)
	<b>Δ</b>	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)	1.0 (1 - 1)
	<b>E</b>	0.0 (0 - 0)	0.6 (0 - 1)	0.6/1 (0 - 1)

## 2. Αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων

### 2.1. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στις σύς και στις τοκετοομάδες τους

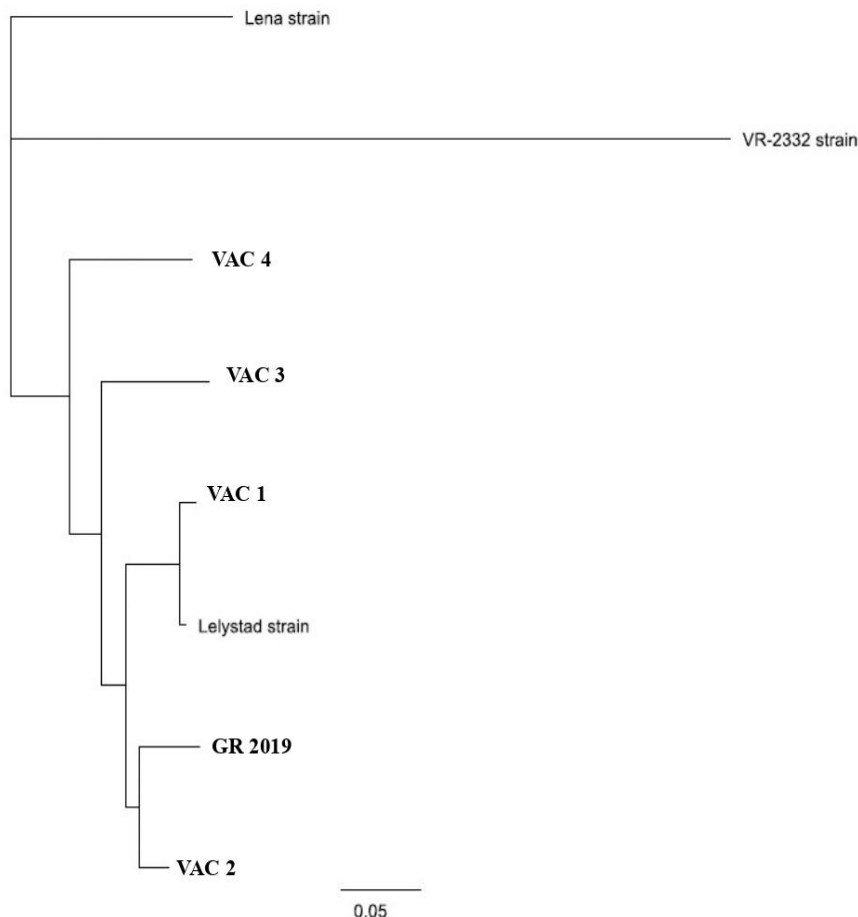
Από τα αποτελέσματα των εξετάσεων διαπιστώθηκε ότι σε καμία χοιρομητέρα της μελέτης δεν υπήρξε κυκλοφορία του ιού. Σε ότι αφορά στα χοιρίδια, παρατηρήθηκε κυκλοφορία του ιού σε μικρό ποσοστό των χοιριδίων (20 θετικά δείγματα σε σύνολο 200 δειγμάτων,  $20/200 = 10\%$ ). Συγκεκριμένα, ο ιός ανιχνεύθηκε σε 10 χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών της εκτροφής 1, που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ, καθώς και σε 10 χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών της εκτροφής 2, που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ. Η συσχέτιση και η διαφορά μεταξύ του αριθμού των χοιριδίων που εμφάνιζαν αναπνευστικά συμπτώματα, απαγωγή των άκρων τους, καθώς και του αριθμού των μουμιοποιημένων χοιριδίων, δεδομένου του αποτελέσματος της δοκιμής RT-PCR δίνεται στο Γράφημα 3.



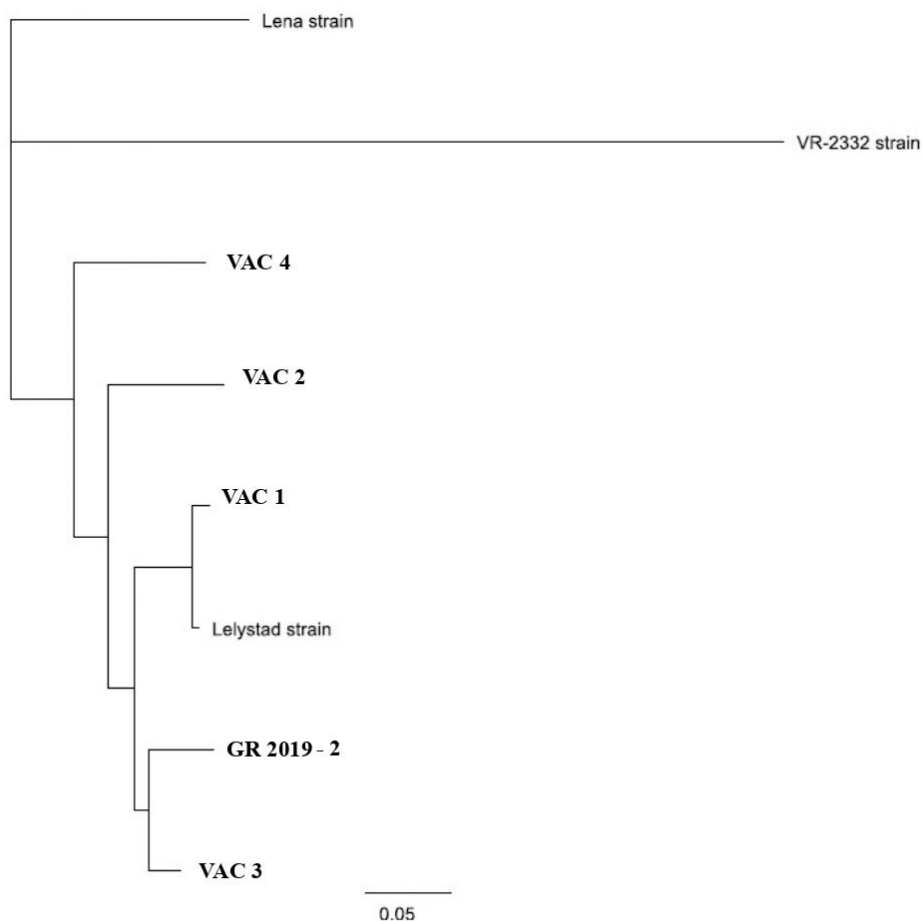
**Γράφημα 3.** Γράφημα «boxplots» με αναπαράσταση της κατανομής του αποτελέσματος των μεταβλητών [α. αναπνευστικά συμπτώματα (respiratory) β. απαγωγή οπισθίων άκρων (spray-leg) γ. αριθμός μουμοποιημένων χοιριδίων (mummified)] με βάση το αποτέλεσμα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction – PCR) [PCR=0/ Αρνητικό, PCR=1/ Θετικό].

## 2.2. Φυλογενετική ανάλυση του απομονωμένου στελέχους του PRRSV

Στα θετικά RT-PCR δείγματα αίματος πραγματοποιήθηκε φυλογενετική ανάλυση των στελεχών του ιού που απομονώθηκαν. Από την ανάλυση των σχετικών αποτελεσμάτων προέκυψε ότι, στην εκτροφή 1, το στέλεχος του ιού που απομονώθηκε σε νεογέννητα χοιρίδια (GR 2019-1, Γράφημα 4) παρουσίαζε υψηλό ποσοστό ομοιότητας με το στέλεχος του ΕΛΔ εμβολίου VP-046 BIS (VAC2). Ειδικότερα, το ποσοστό ομοιότητας που ανιχνεύθηκε ανερχόταν στο 98,7%. Επιπλέον, η φυλογενετική ανάλυση αποκάλυψε υψηλό ποσοστό ομοιότητας μεταξύ του στελέχους του ιού που απομονώθηκε σε νεογέννητα χοιρίδια στην εκτροφή 2 (GR 2019-2, Γράφημα 5) με το στέλεχος του ΕΛΔ εμβολίου 94881 (VAC3). Στη συγκεκριμένη περίπτωση, το ποσοστό ομοιότητας που ανιχνεύθηκε ανερχόταν στο 99,2%.



**Γράφημα 4.** Φυλογενετικό δένδρο των στελεχών αναφοράς και του στελέχους του ιού του PRRS που απομονώθηκε στην εκτροφή 1.



**Γράφημα 5.** Φυλογενετικό δένδρο των στελεχών αναφοράς και του στελέχους του PRRSV που απομονώθηκε στην εκτροφή 2.

### 2.3. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV στις σύς και στα χοιρίδια την 1η ημέρα ζωής τους

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι το σύνολο των σιών του πειραματισμού είχαν αντισώματα κατά του ιού (τίτλοι αντισωμάτων > 1:20). Οι τίτλοι αντισωμάτων που ανιχνεύθηκαν συνοψίζονται στον Πίνακα 10.

**Πίνακας 10.** Μέση τιμή τίτλου αντισωμάτων (S/P ratio) για τις νεαρές σύς αντικατάστασης που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

<b>Εκτροφές πειραματισμού</b>	<b>Ομάδες μελέτης</b>	<b>Μέση τιμή τίτλου αντισωμάτων (S/P ratio)</b>
<b>Εκτροφή 1</b>	<b>A</b>	136.6
	<b>B</b>	181.8
	<b>Γ</b>	76.6
	<b>Δ</b>	94.2
	<b>E</b>	94.6
<b>Εκτροφή 2</b>	<b>A</b>	92.2
	<b>B</b>	62.0
	<b>Γ</b>	53.0
	<b>Δ</b>	107.4
	<b>E</b>	151.2
<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	119.8
	<b>B</b>	122.8
	<b>Γ</b>	109.0
	<b>Δ</b>	114.8
	<b>E</b>	148.4
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	122.0
	<b>B</b>	131.2
	<b>Γ</b>	100.0
	<b>Δ</b>	100.2
	<b>E</b>	149.2

Από την ανάλυση των δεδομένων των αποτελεσμάτων ELISA στα δείγματα αίματος των χοιριδίων προέκυψε ότι στην πλειοψηφία τους ήταν οροθετικά στον ιό (τίτλοι αντισωμάτων > 1:20).

Ειδικότερα, διαπιστώθηκαν θετικά τα 181 από τα συνολικά 200 δείγματα ορού αίματος ( $181 / 200 = 90,5\%$ ) (Γράφημα 6).

Στην εκτροφή 1, σε 9 από τα 50 δείγματα ορού αίματος δεν ανιχνεύθηκαν αντισώματα κατά του PRRSV. Συγκεκριμένα, σε πέντε χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα μελέτης C, δύο χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα Δ και δύο χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα Ε δεν βρέθηκαν αντισώματα κατά του PRRSV, με τις δοκιμές ELISA.

Στην εκτροφή 2, σε 4 από τα 50 δείγματα ορού αίματος δεν ανιχνεύθηκαν αντισώματα κατά του PRRSV. Συγκεκριμένα, σε δύο χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ και σε δύο των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα Δ.

Στην εκτροφή 3, σε όλα τα δείγματα ορού αίματος (50 δείγματα ορού αίματος) που εξετάστηκαν ανιχνεύθηκαν αντισώματα κατά του PRRSV.

Στην εκτροφή 4, σε 6 από τα 50 δείγματα ορού αίματος δεν ανιχνεύθηκαν αντισώματα κατά του PRRSV. Συγκεκριμένα, σε τέσσερα χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Α και σε δύο των τοκετοομάδων των συών που ανήκαν στην ομάδα Δ.

Από την ανάλυση των δεδομένων της ELISA διαπιστώθηκε παρουσία αντισωμάτων κατά του PRRSV τόσο σε χοιρίδια, στα οποία η εξέταση RT-PCR έδειξε κυκλοφορία του ιού, όσο και σε εκείνα που δεν ανιχνεύθηκε κυκλοφορία του ιού (Πίνακας 11, Γράφημα 9). Τίτλοι αντισωμάτων κατά του PRRS ανιχνεύθηκαν, επίσης, τόσο σε χοιρίδια στα οποία πραγματοποιήθηκε αιμοληψία σχεδόν αμέσως μετά τη γέννησή τους (0-3 ώρες), όσο και σε εκείνα στα οποία η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε λίγες (3-6 ώρες) ή και αρκετές ώρες μετά (6-9 ώρες) (Πίνακες 12, 13).

Η σύσχετιση και η διαφορά μεταξύ του μέσου τίτλου των αντισωμάτων των χοιριδίων κατά του ιού του PRRS και του χρόνου αιμοληψίας δίνεται στον Πίνακα 13, καθώς και στα Γραφήματα 7 και 8. Επίσης, η συσχέτιση και η διαφορά μεταξύ του μέσου τίτλου των αντισωμάτων των χοιριδίων κατά του PRRSV και του αποτελέσματος της δοκιμής RT-PCR δίνεται στο Γράφημα 9.

**Πίνακας 11.** Αποτελέσματα δοκιμών ELISA, μέση τιμή τίτλου αντισωμάτων (S/P ratio) και αποτελέσματα RT-PCR για τα χοιρίδια που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

Εκτροφές πειραματισμού	Ομάδες μελέτης	Χοιρίδια θετικά στις δοκιμές ELISA	Μέση τιμή	
			τίτλου αντισωμάτων (S/P ratio)	Χοιρίδια θετικά στην RT-PCR
<b>Εκτροφή 1</b>	<b>A</b>	10/10	128.4	0/10
	<b>B</b>	10/10	81.5	0/10
	<b>Γ</b>	5/10	31.3	10/10
	<b>Δ</b>	8/10	69.3	0/10
	<b>E</b>	8/10	77.4	0/10
<b>Εκτροφή 2</b>	<b>A</b>	10/10	134.8	0/10
	<b>B</b>	10/10	135.3	0/10
	<b>Γ</b>	8/10	44.2	0/10
	<b>Δ</b>	8/10	45.6	10/10
	<b>E</b>	10/10	126.7	0/10
<b>Εκτροφή 3</b>	<b>A</b>	10/10	128.3	0/10
	<b>B</b>	10/10	140.2	0/10
	<b>Γ</b>	10/10	149.7	0/10
	<b>Δ</b>	10/10	110.4	0/10
	<b>E</b>	10/10	106.7	0/10
<b>Εκτροφή 4</b>	<b>A</b>	6/10	91.8	0/10
	<b>B</b>	10/10	71.9	0/10
	<b>Γ</b>	10/10	62.9	0/10
	<b>Δ</b>	8/10	34.1	0/10
	<b>E</b>	10/10	112.6	0/10

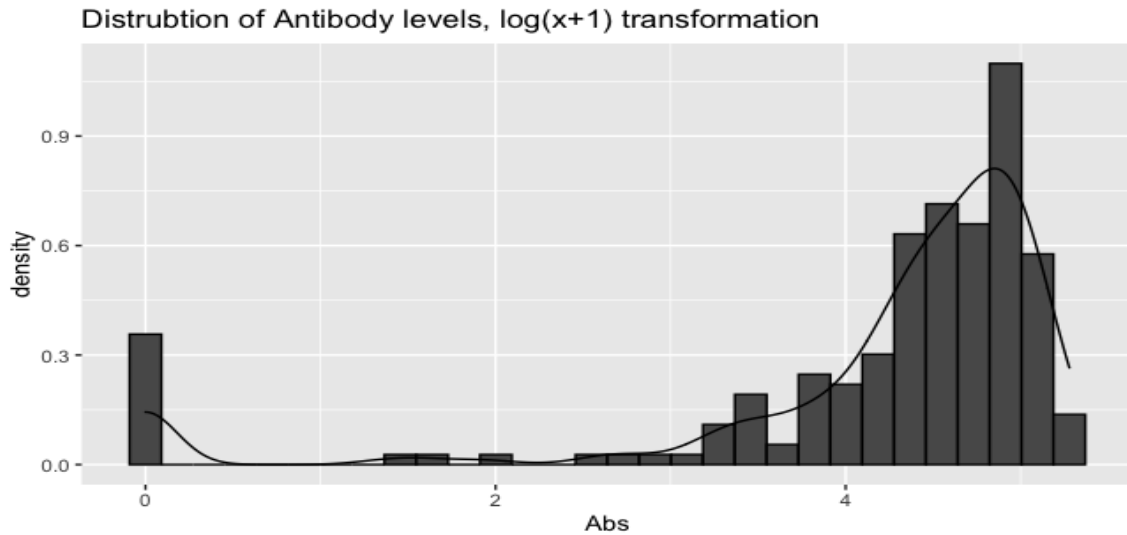


**Πίνακας 12.** Επίπεδα αντισωμάτων (S/P ratio) και το αποτέλεσμα της PCR για κάθε κατηγορία/επίπεδο της μεταβλητής «Ωρες μετά τη γέννηση» (“Hour\_birth”).

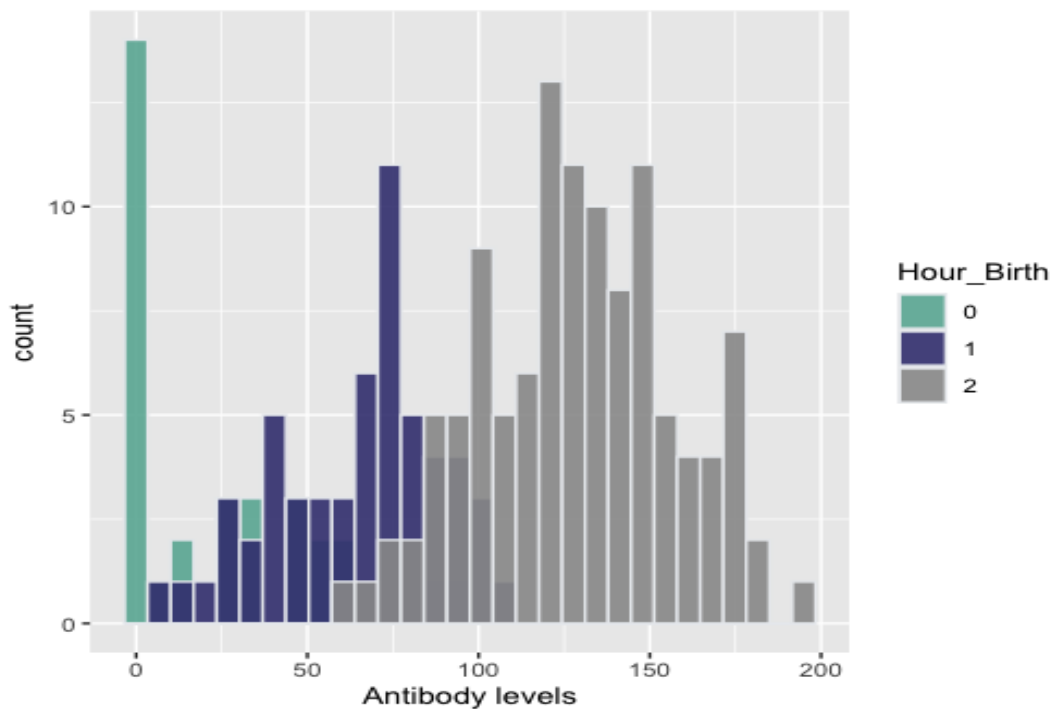
Επίπεδο Αντισωμάτων	1 <sup>ο</sup> ποσοστημόριο (25%)	Μέση τιμή (S/P ratio)	3 <sup>ο</sup> ποσοστημόριο (75%)	Αποτέλεσμα PCR		
				Θετικό	Αρνητικό	
Ωρες μετά τη γέννηση (h)	0 – 3 h	0.0	14.0	45.5	12	20
	3 – 6 h	45.5	64.6	80.5	8	48
	> 6 h	108.0	129.0	148.0	0	112

**Πίνακας 13.** Εκτιμήσεις και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (ΔΕ) που αποτυπώνουν την επίδραση των ανεξάρτητων μεταβλητών στο επίπεδο αντισωμάτων.

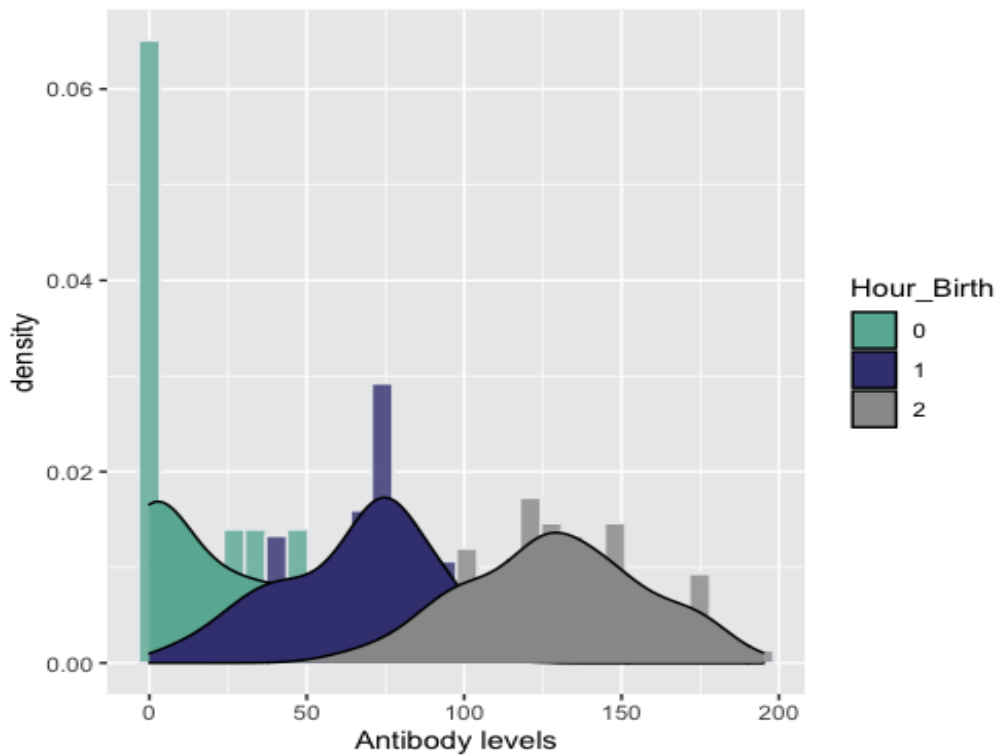
Γραμμική Παλινδρόμηση			
Μεταβλητή	Επίπεδο αντισωμάτων και διάστημα εμπιστοσύνης (95%)	Τιμή P	
Ωρες μετά τη γέννηση (h)	0-3 h	4.3 (2.75- 6.71)	<0.001
	3-6 h	8.26 (5.77- 11.8)	<0.001
	6-9 h	26.33 (17.23- 40.24)	<0.001



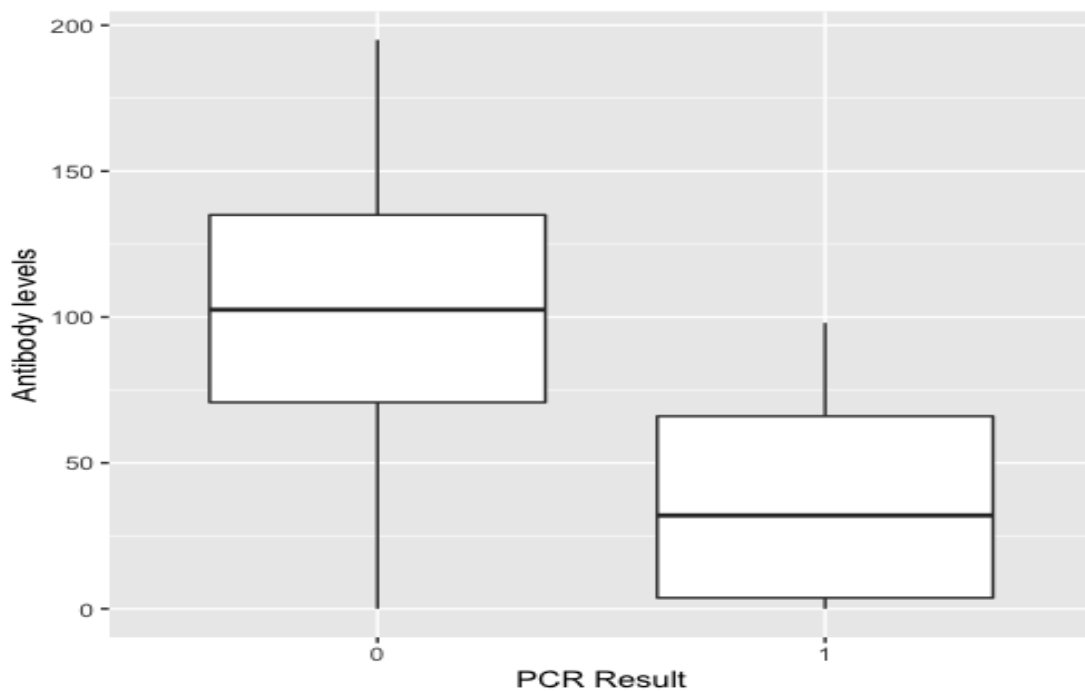
**Γράφημα 6.** Κατανομή των επιπέδων αντισωμάτων (οι τιμές έχουν μεταμορφωθεί με την  $\log(x+1)$  συνάρτηση). *Density*: Ιστόγραμμα πυκνοτήτων - Στο γράφημα έχει προστεθεί η θεωρητική καμπύλη που απεικονίζει την κατανομή των δεδομένων, ενώ το ύψος κάθε ράβδου αντιστοιχεί στην πυκνότητα των παρατηρήσεων σε κάθε διάστημα. / *Abs*: επίπεδο αντισωμάτων.



**Γράφημα 7.** Ιστόγραμμα των αντισωμάτων για κάθε επίπεδο της μεταβλητής «Ώρες μετά τη γέννηση» («Hour\_birth») [0 → 0-3 h, 1 → 3-6 h, 2 → > 6 h]. *Count*: Αναφέρεται στον αριθμό-πλήθος των παρατηρήσεων που βρίσκονται εντός ενός διαστήματος, δηλαδή πόσες παρατηρήσεις βρίσκονται στο διάστημα [100-110].



**Γράφημα 8.** Κατανομή των αντισωμάτων για κάθε επίπεδο της μεταβλητής «Ωρες μετά τη γέννηση» («Hour\_birth»)[0 → 0-3 h, 1 → 3-6 h, 2 → > 6 h].

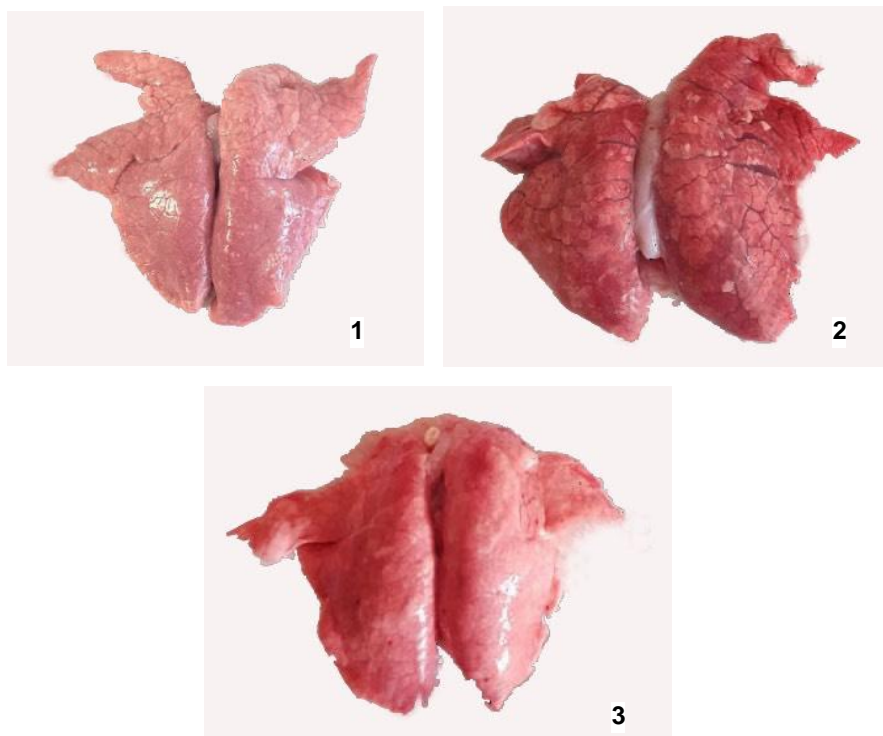


**Γράφημα 9.** Γραφική κατανομή («boxplots») των επίπεδων αντισωμάτων και του αποτελέσματος της PCR. PCR=0(1), δηλώνει αρνητικό (θετικό) αποτέλεσμα.

## 2.4. Αξιολόγηση αλλοιώσεων στο πνευμονικό παρέγχυμα

### 2.4.1. Μακροσκοπικές αλλοιώσεις

Στα χοιρίδια με χαμηλό ΣΒ τα οποία εμφάνιζαν τις πρώτες ώρες (0-9 ώρες) μετά τη γέννησή τους αφυδάτωση, πραγματοποιήθηκε ευθανασία και ακολούθως νεκροτομή. Κατά τη μακροσκοπική εξέταση των πνευμόνων τους διαπιστώθηκε ότι οι πνεύμονες των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Α σε όλες τις εκτροφές ήταν φυσιολογικοί (ροδαλό χρωματισμό, μαλακή-σπογγώδης σύσταση, με φυσιολογικό μέγεθος (καταλάμβαναν μεταξύ του 1/3 έως 2/3 της θωρακικής κοιλότητας) και δεν παρουσίαζαν αξιοσημείωτες αλλοιώσεις. Αντίθετα, οι πνεύμονες των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ της εκτροφής 1, καθώς και των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ της εκτροφής 2 παρουσίασαν αλλοιώσεις ενδεικτικές αρχόμενης διάμεσης πνευμονίας. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε διάχυτος αποχρωματισμός και οίδημα, αυξημένη ελαστικότητα του πνευμονικού παρεγχύματος και παρουσία διάσπαρτων αιμορραγιών. Στους πνεύμονες των υπολοίπων χοιριδίων της μελέτης διαπιστώθηκε οίδημα ήπιου βαθμού και υπεραιμία.



**Εικόνα 9.** Πνεύμονες νεογέννητων χοιριδίων: Διάχυτος αποχρωματισμός και αυξημένη ελαστικότητα σε χοιρίδιο που ανήκε στην ομάδα μελέτης Γ, εκτροφή 1 (RT-PCR (+) στον RRRSV) (1), υπεραιμία και διόγκωση των πνευμόνων εξαιτίας οιδήματος σε χοιρίδιο που ανήκε στην ομάδα μελέτης Δ, εκτροφή 2 (RT-PCR (+) στον RRRSV) (2), απουσία αλλοιώσεων σε χοιρίδιο-μάρτυρα (3).

## **2.4.2. Μικροσκοπικές αλλοιώσεις**

### **2.4.2.1. Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις**

Τη μακροσκοπική αξιολόγηση των δειγμάτων πνεύμονα που συλλέχθηκαν ακολούθησε η μικροσκοπική τους εξέταση. Από την ιστοπαθολογική εξέταση προέκυψε ότι οι πνεύμονες των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Α σε όλες τις εκτροφές δεν παρουσίαζαν αξιοσημείωτες μικροσκοπικές αλλοιώσεις (Εικόνες 10 - 11). Αντίθετα, στους πνεύμονες των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ της εκτροφής 1, καθώς και των χοιριδίων που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ της εκτροφής 2 εντοπίστηκαν οι εξής αλλοιώσεις:

α) διάχυτη πάχυνση των κυψελιδικών διαφραγμάτων λόγω διήθησής τους από λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και ολιγάριθμα ιστιοκύτταρα (Εικόνες 12 -16),

β) Κυψελιδικό οίδημα σε σημαντικό αριθμό των κυψελίδων διαπιστώθηκε, συχνά πλούσιου σε πρωτεϊνικό υλικό, που αμιγνυόταν με εξαγγειωμένα ερυθρά αιμοσφαίρια και διάσπαρτα κυψελιδικά μακροφάγα και/ή ολιγάριθμα ουδετερόφιλα (Εικόνες 14, 15, 16),

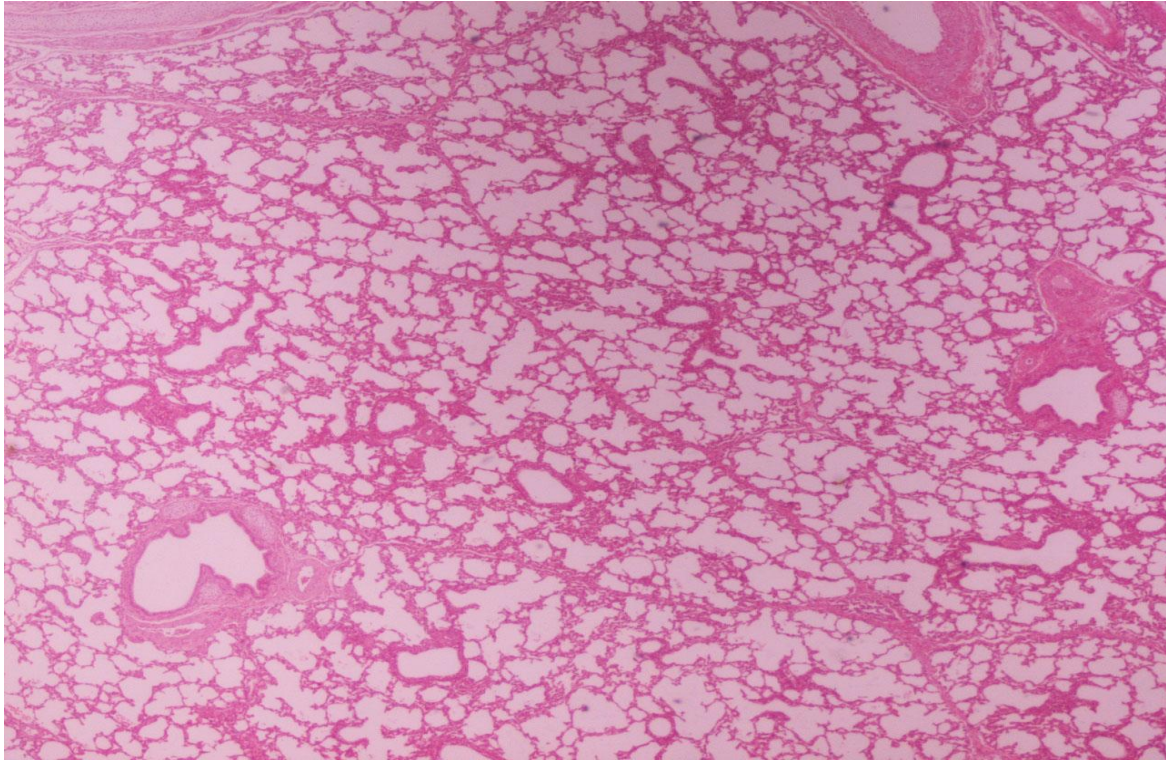
γ) πολυεστιακή υπερπλασία στο επιθήλιο βρόγχων και βρογχιολίων (Εικόνες 14, 15),

δ) περιστασιακή απώλεια πνευμονοκυττάρων τύπου I και υπερπλασία των πνευμονοκυττάρων τύπου II (Εικόνα 16),

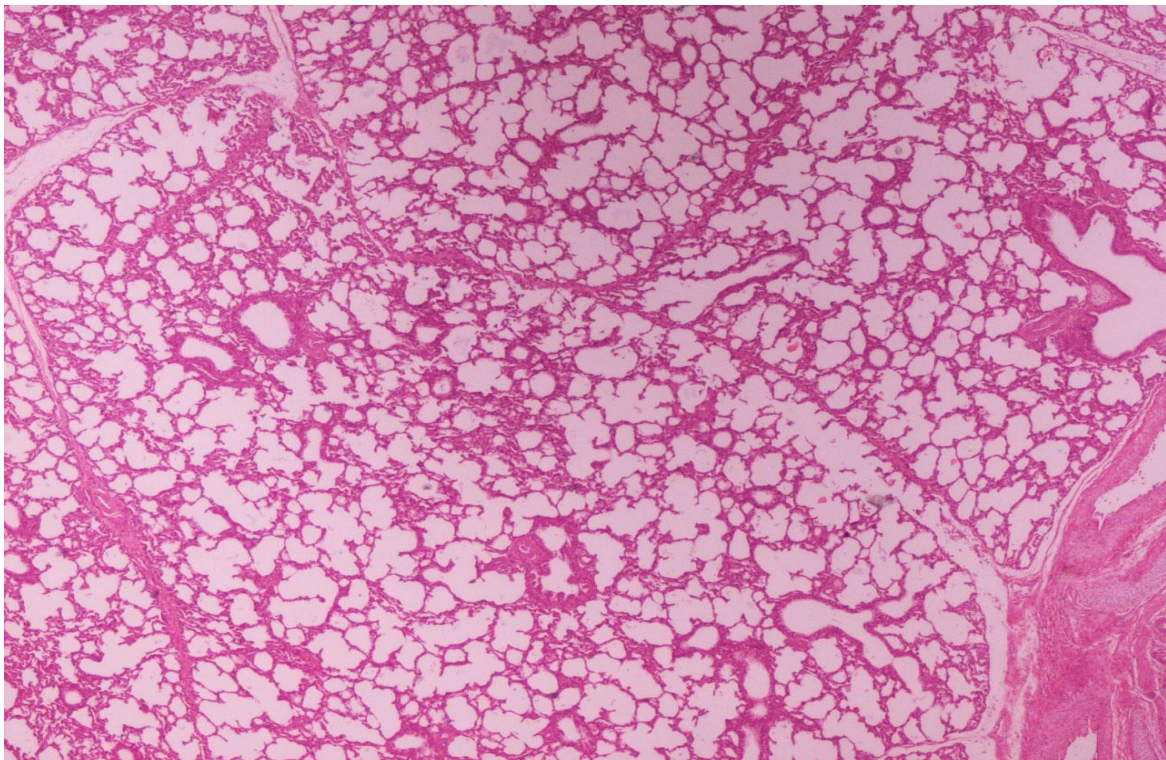
ε) ήπιου βαθμού υπεραιμία του πνευμονικού παρεγχύματος (Εικόνα 16),

στ) ήπιου βαθμού διάμεσο οίδημα (Εικόνα 17).

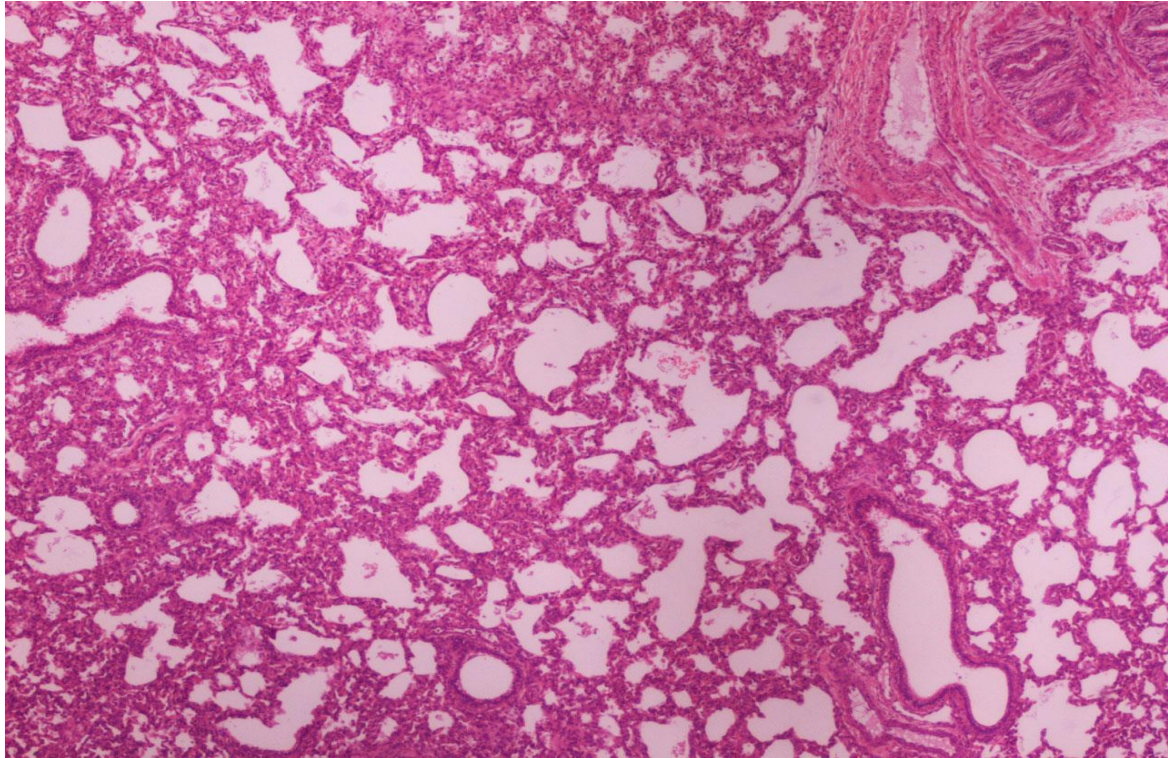
Στους πνεύμονες των υπολοίπων χοιριδίων της μελέτης εντοπίστηκαν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις παρόμοιες με τις προαναφερθείσες, ηπιότερου όμως βαθμού (Εικόνες 18 - 20).



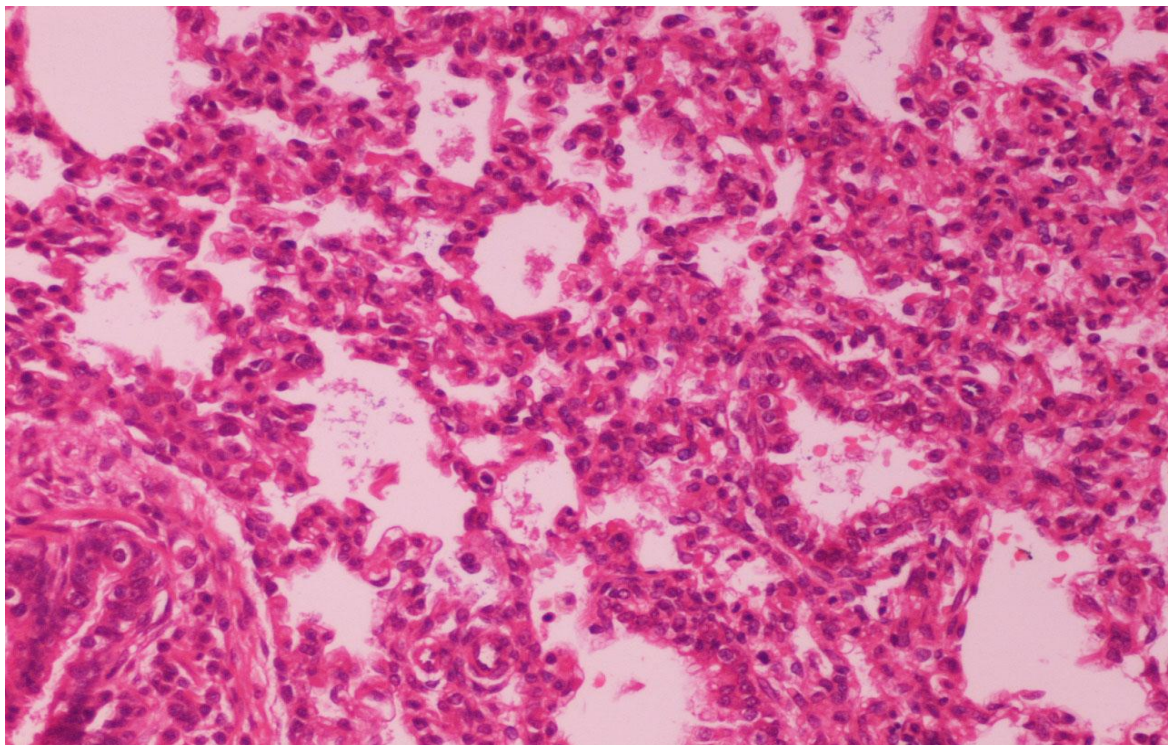
**Εικόνα 10.** Φυσιολογικός πνεύμονας νεογέννητου χοιριδίου: μάρτυρας



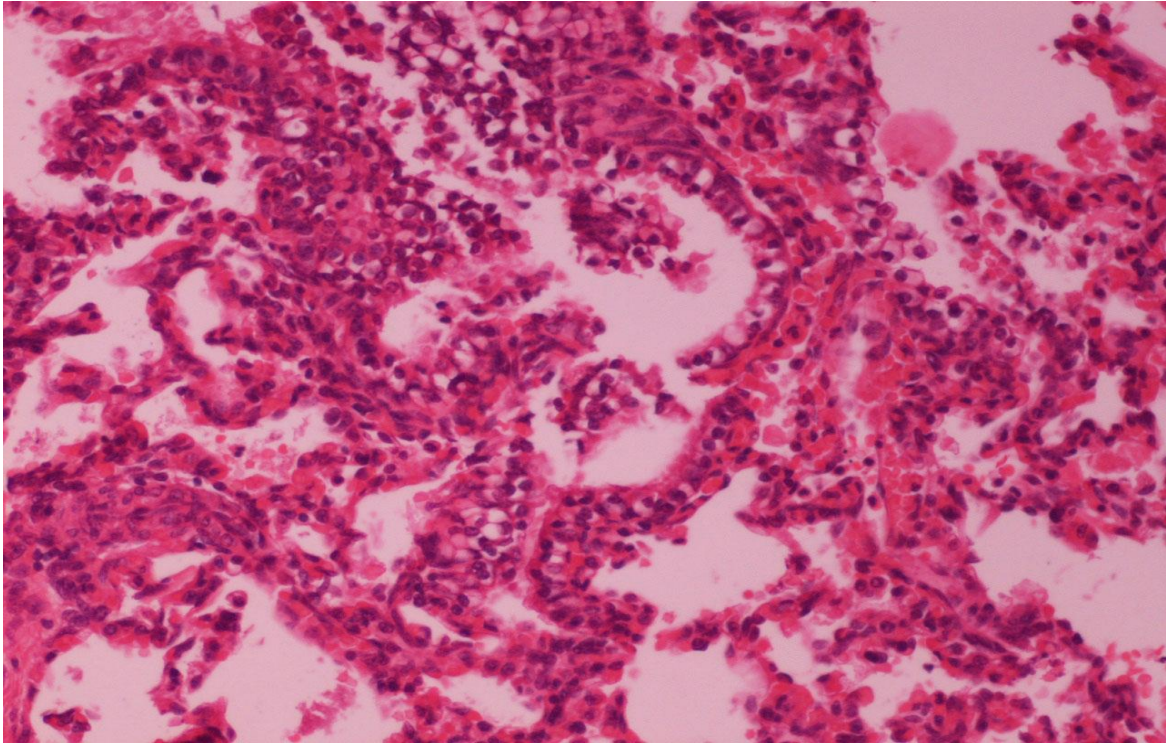
**Εικόνα 11.** Φυσιολογικός πνεύμονας νεογέννητου χοιριδίου: μάρτυρας.



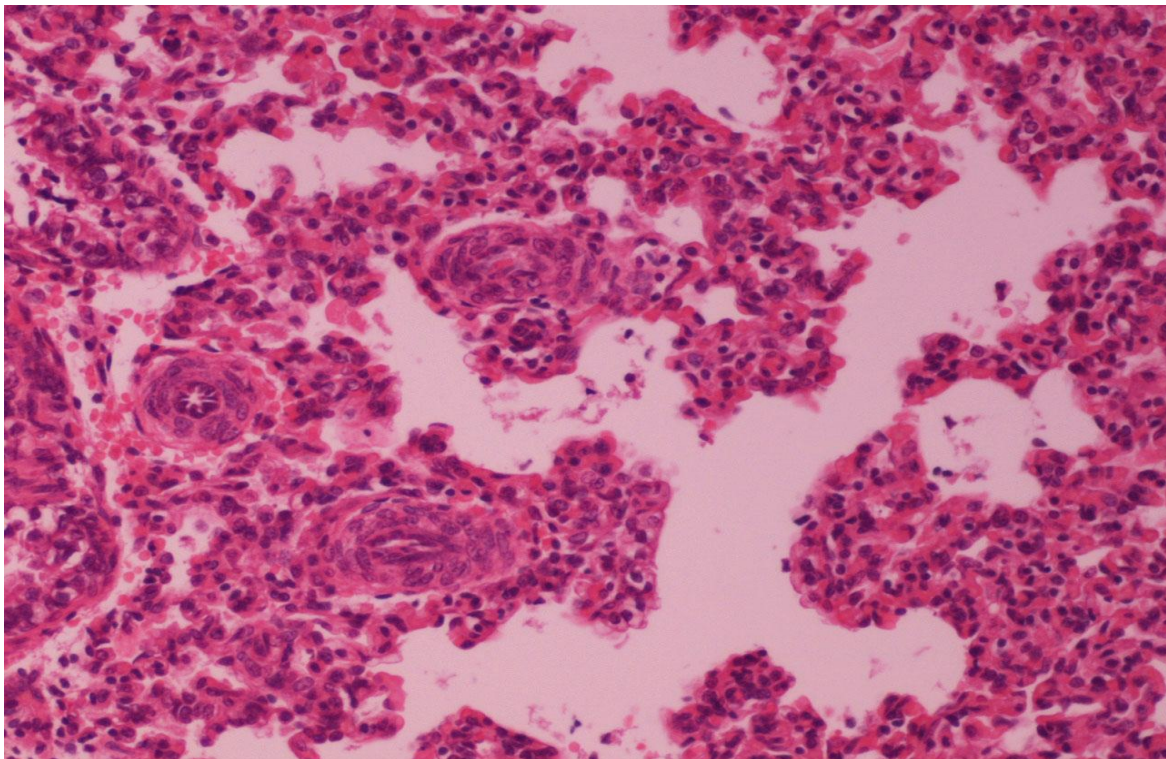
**Εικόνα 12.** Πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Γ από την εκτροφή 1.



**Εικόνα 13.** Πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Γ από την εκτροφή 1. Διακρίνεται η διήθηση από λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα καθώς και η παρουσία ολιγάριθμων κυψελιδικών μακροφάγων στον αυλό κυψελίδων.

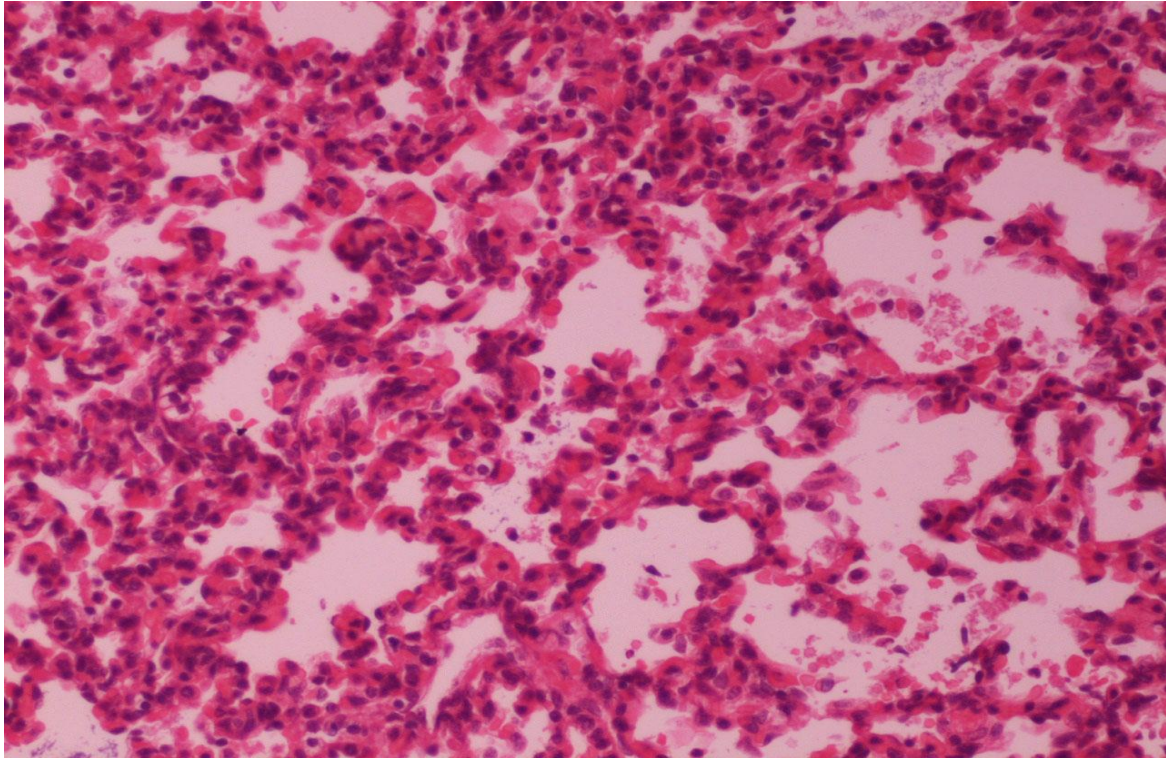


**Εικόνα 14.** Πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων και υπεραιμία σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Γ από την εκτροφή 1. Διακρίνεται η διήθηση από λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα η παρουσία ολιγάριθμων κυψελιδικών μακροφάγων στον αυλό κυψελίδων καθώς και η υπερπλασία του επιθηλίου βρογχιολίου (κεντρικά).

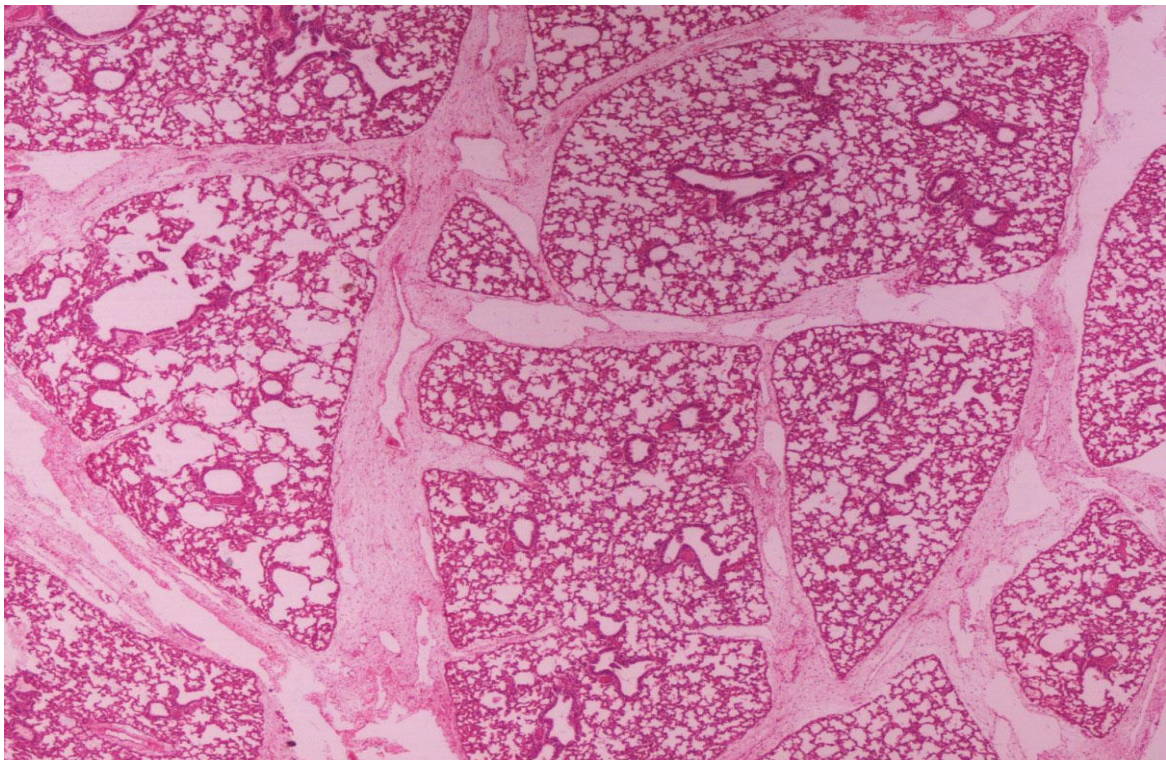


**Εικόνα 15.** Πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων και υπεραιμία σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Δ από την εκτροφή 2. Διακρίνεται η διήθηση από λεμφοκύτταρα, πλασμοκύτταρα και ολιγάριθμα ουδετερόφιλα καθώς και η παρουσία ολιγάριθμων κυψελιδικών μακροφάγων στον αυλό κυψελίδων και η πάχυνση του τοιχώματος των βρογχιολίων (κεντρικά).

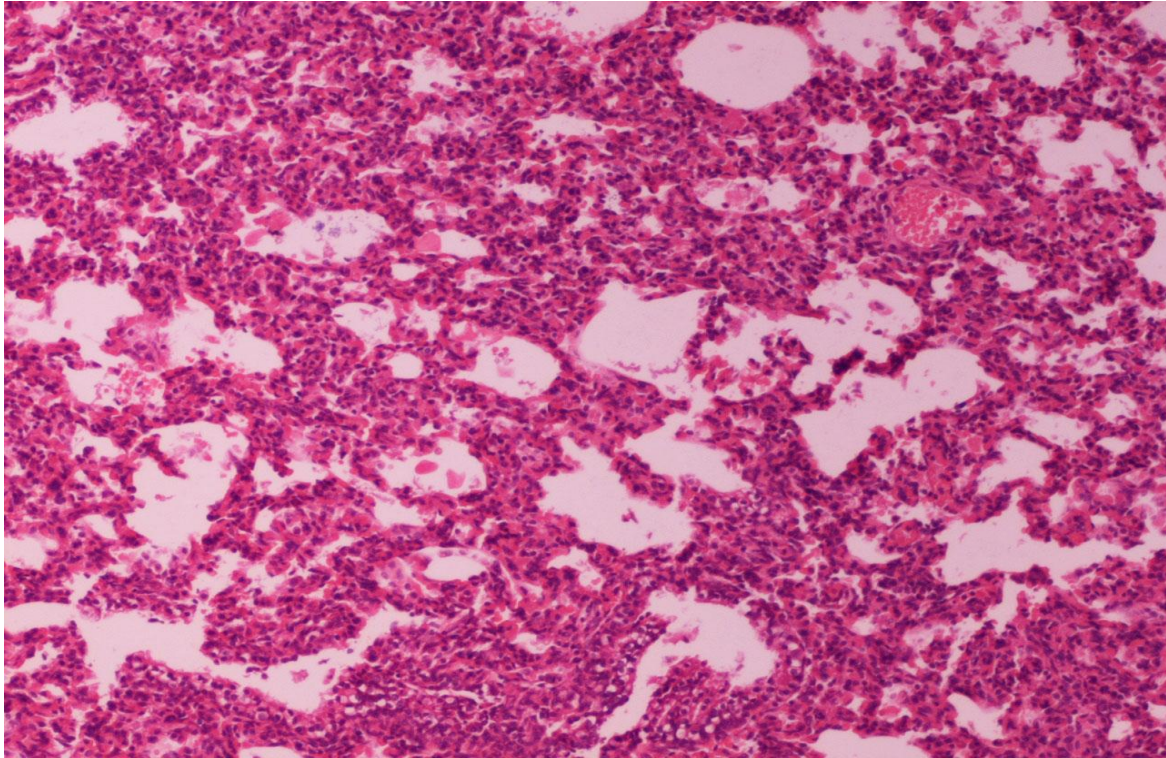




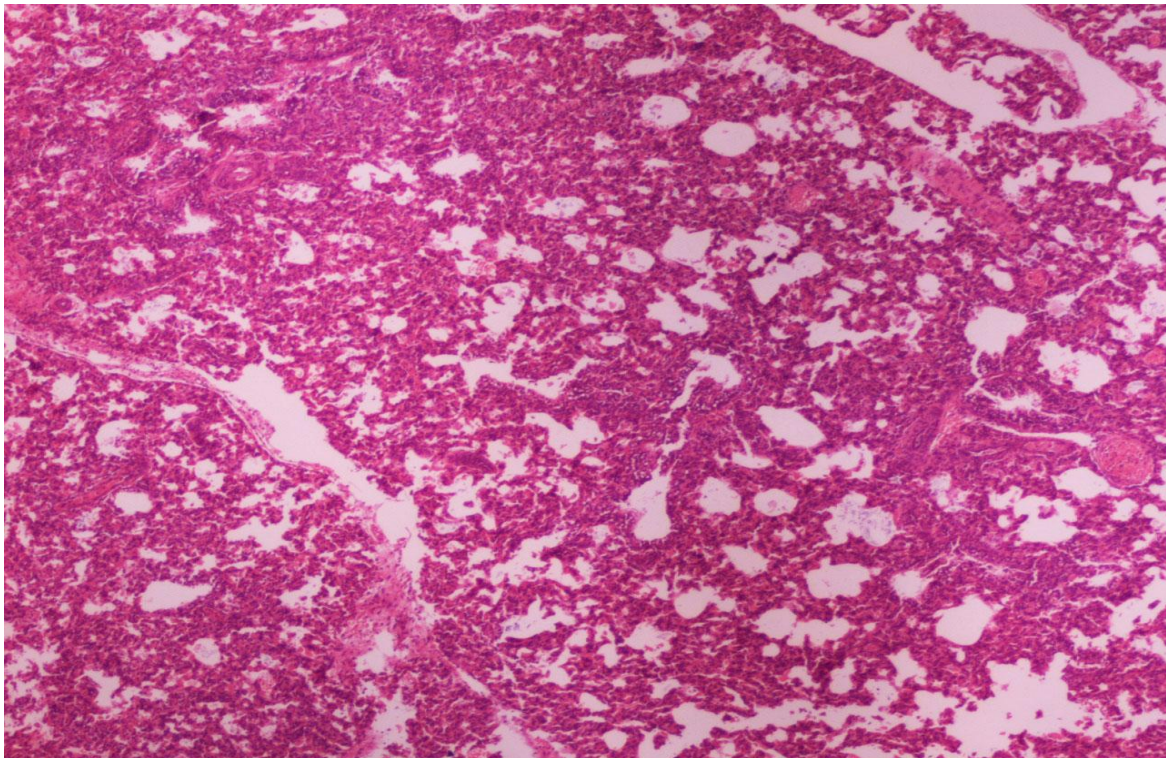
**Εικόνα 16.** Διαπιστώνεται διάχυτη υπεραιμία, πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων εξαιτίας διήθησής τους από λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα, εστίες με απώλεια των πνευμοκυττάρων τύπου I και εξαγγειωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων στον αυλό κυψελίδων σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου που ανήκε στην ομάδα μελέτης Δ από την εκτροφή 2.



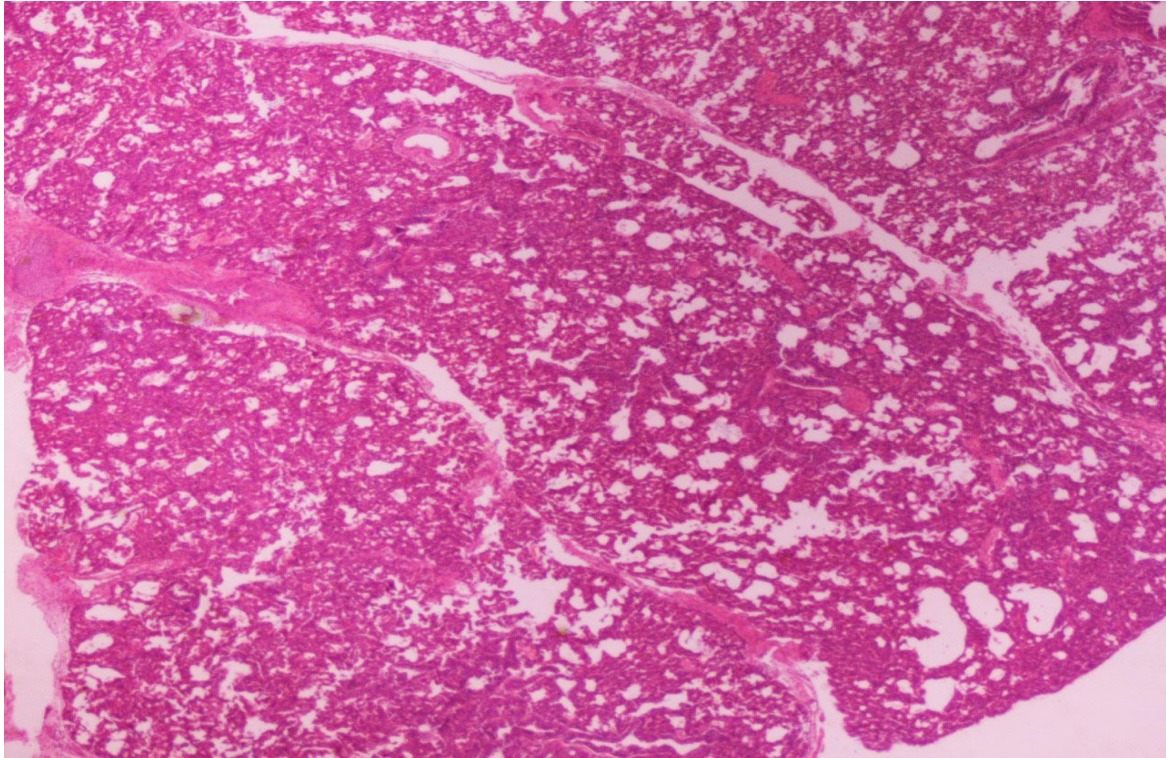
**Εικόνα 17.** Διάμεσο οίδημα σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Δ από την εκτροφή 2.



**Εικόνα 18.** Πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων και υπεραιμία σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης B από την εκτροφή 1.



**Εικόνα 19.** Σοβαρού βαθμού πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων και υπεραιμία σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης E από την εκτροφή 2.

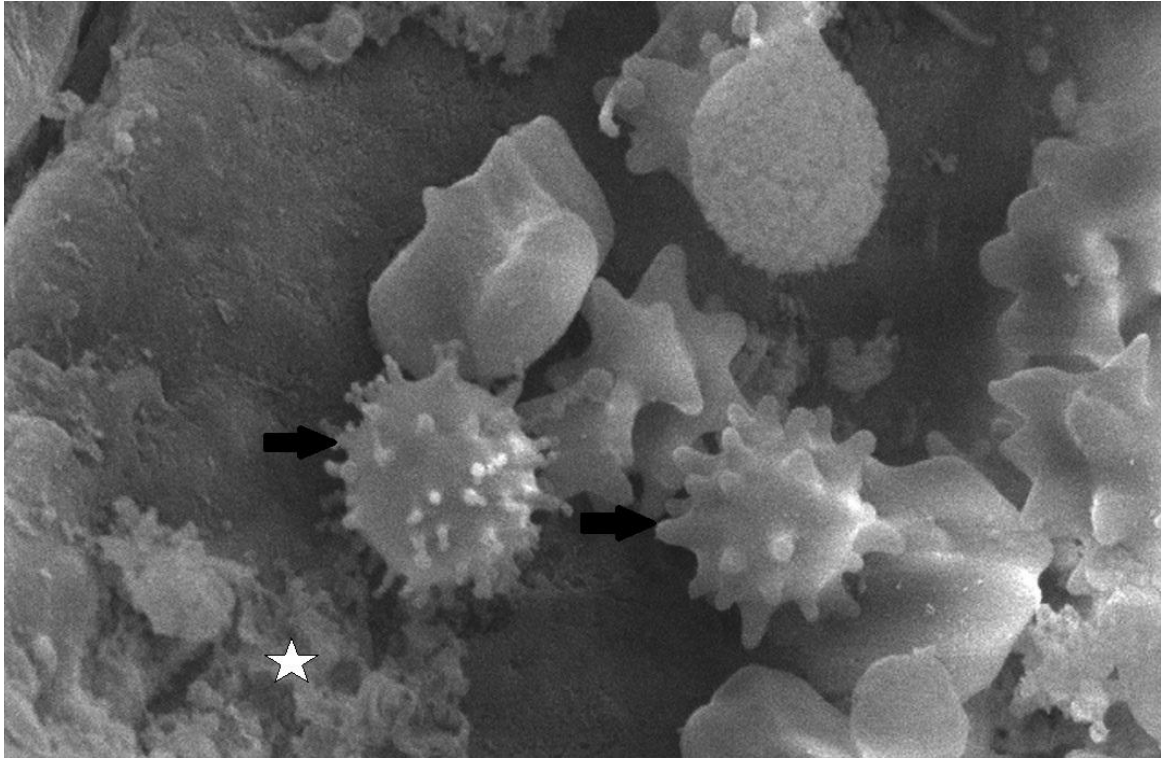


**Εικόνα 20.** Σοβαρού βαθμού πάχυνση των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων σε πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου της ομάδας μελέτης Δ από την εκτροφή 3.

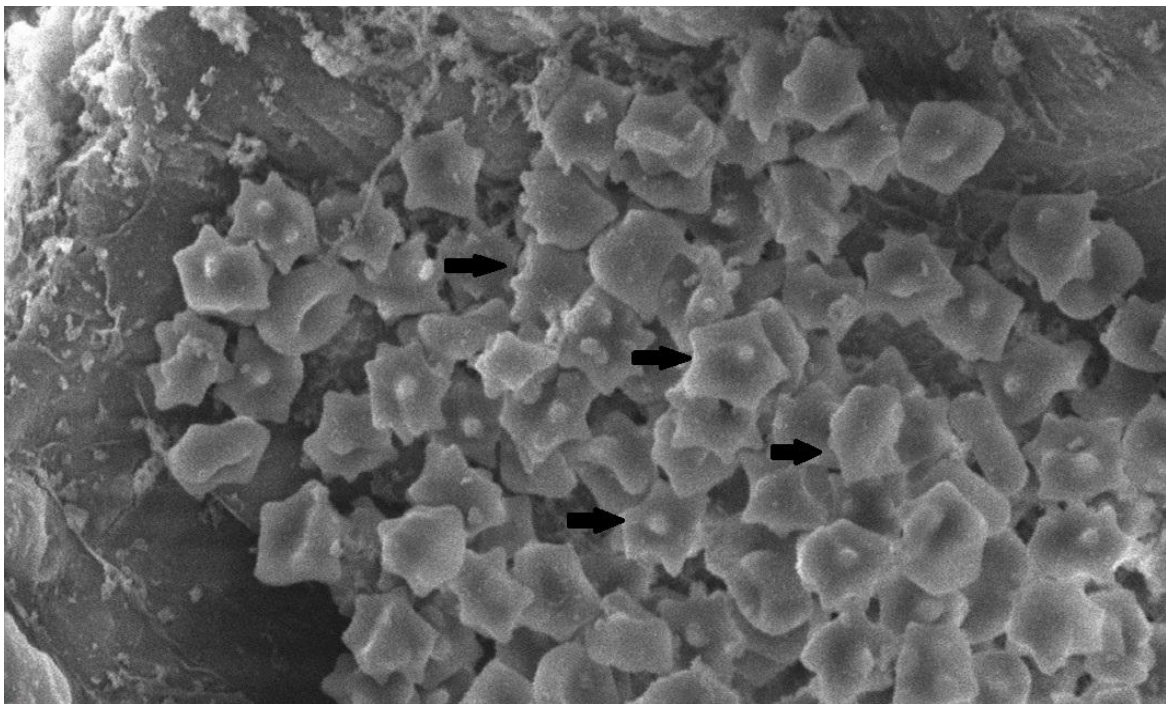
#### **2.4.2.2. Σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο**

Κατόπιν της αξιολόγησης των ιστοπαθολογικών ευρημάτων στα δείγματα πνεύμονα που συλλέχθηκαν, ακολούθησε η εξέταση σε σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Ειδικότερα, εξετάστηκαν ιστοτεμάχια από πνεύμονες χοιριδίων, στους οποίους είχαν διαπιστωθεί με το οπτικό μικροσκόπιο αξιοσημείωτες αλλοιώσεις. Τέτοιου είδους βλάβες, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, παρατηρήθηκαν σε χοιρίδια που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ της εκτροφής 1, καθώς και στην ομάδα μελέτης Δ της εκτροφής 2. Από την παρατήρηση των δειγμάτων πνεύμονα στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο εντοπίστηκαν οι εξής αλλοιώσεις:

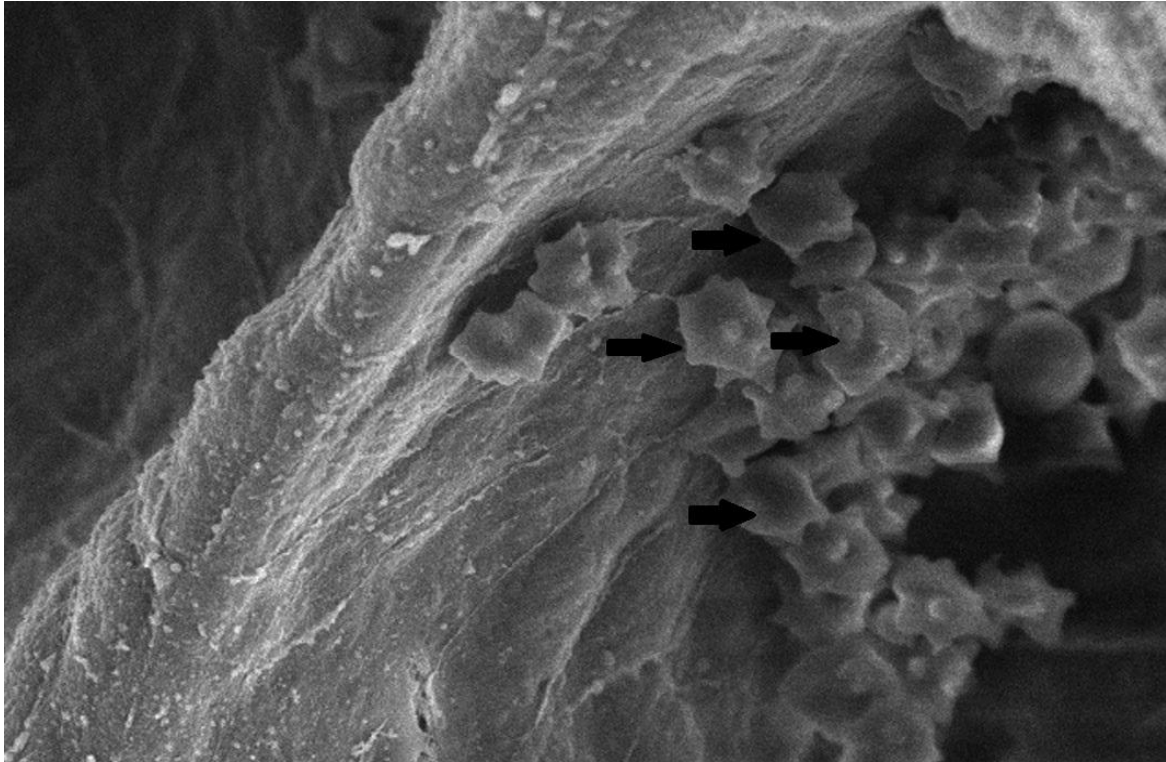
- α) παρουσία πρωτεϊνικού υλικού και εξαγγειωμένων ερυθροκυττάρων στον αυλό κυψελίδων (Εικόνες 21, 22, 23),
- β) πάχυνση κυψελιδικών τοιχωμάτων λόγω διήθησής τους από λεμφοκύτταρα και μακροφάγα (Εικόνα 24),
- γ) χαλάρωση των συνδέσεων των πνευμονοκυττάρων τύπου I, (ένδειξη εκφύλισης/νέκρωσής τους) (Εικόνες 25, 26),
- δ) παρουσία πρωτεϊνικού υλικού, ρακών και εξαγγειωμένων ερυθροκυττάρων στον αυλό βρόγχων και βρογχιολίων (Εικόνες 27, 28),
- ε) εστίες απώλειας κροσσών του αναπνευστικού επιθηλίου (Εικόνα 29).



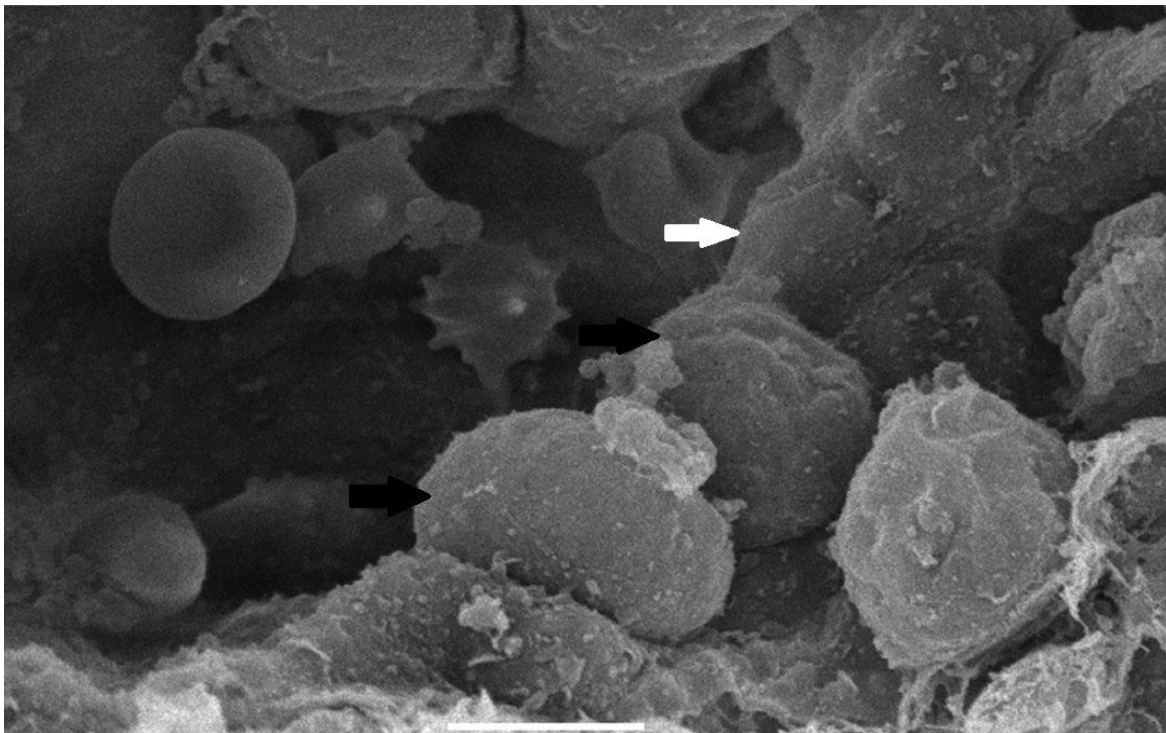
**Εικόνα 21.** Πνευμονική κυψελίδα νεογέννητου χοιριδίου: Παρουσία πρωτεϊνικού υλικού (αστέρι) και ερυθροκυττάρων (βέλη).



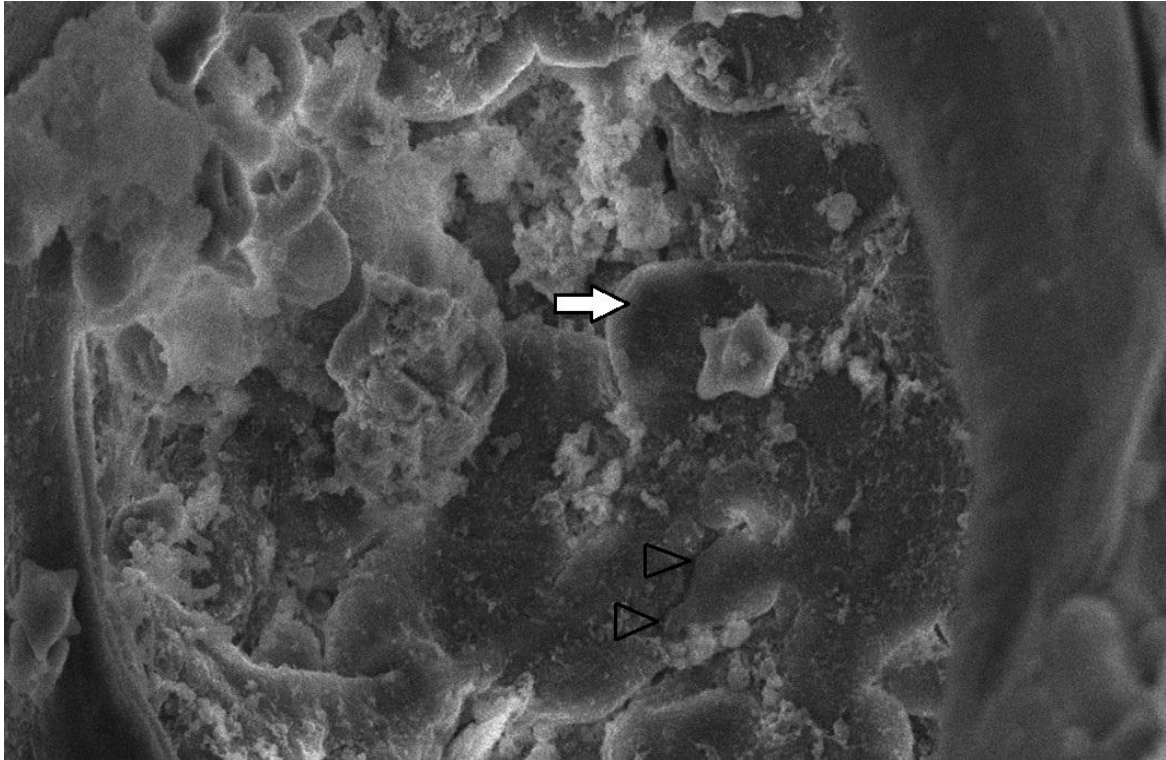
**Εικόνα 22.** Πνευμονική κυψελίδα νεογέννητου χοιριδίου: Παρουσία πολυάριθμων ερυθροκυττάρων (βέλη) που καταλαμβάνουν το χώρο (μικρο-αιμορραγία).



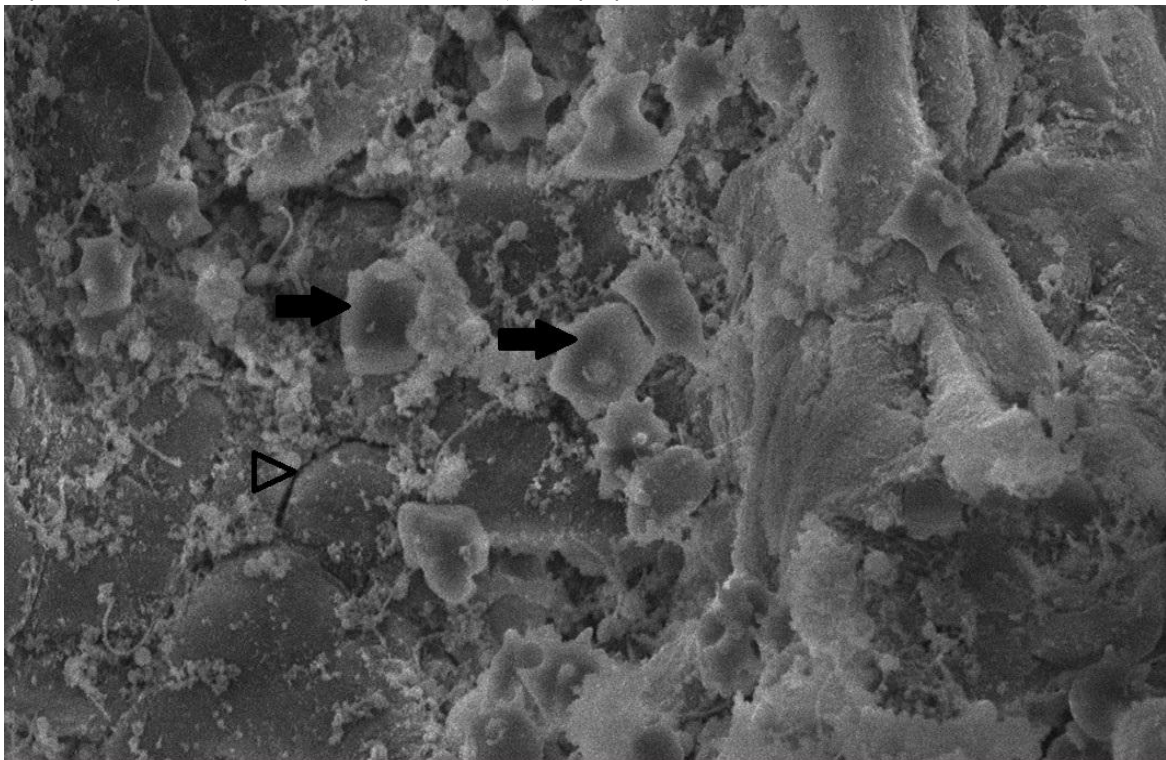
**Εικόνα 23.** Πνευμονική κυψελίδα νεογέννητου χοιριδίου: Παρουσία ερυθροκυττάρων (βέλη).



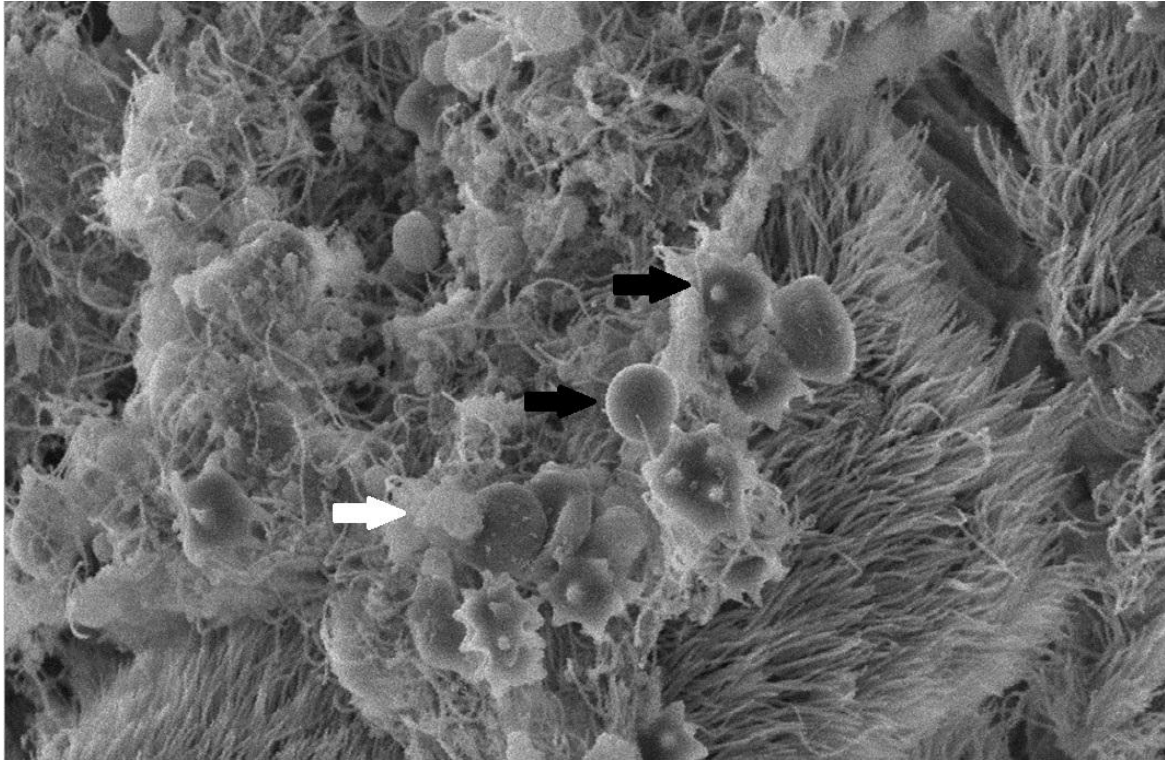
**Εικόνα 24.** Πνευμονική κυψελίδα νεογέννητου χοιριδίου: Πάχυνση κυψελιδικού τοιχώματος εξαιτίας διήθησης από λεμφοκύτταρα (μάυρα βέλη) και μακροφάγο κύτταρο (άσπρο βέλος). Εντός του αυλού διακρίνονται ερυθροκύτταρα.



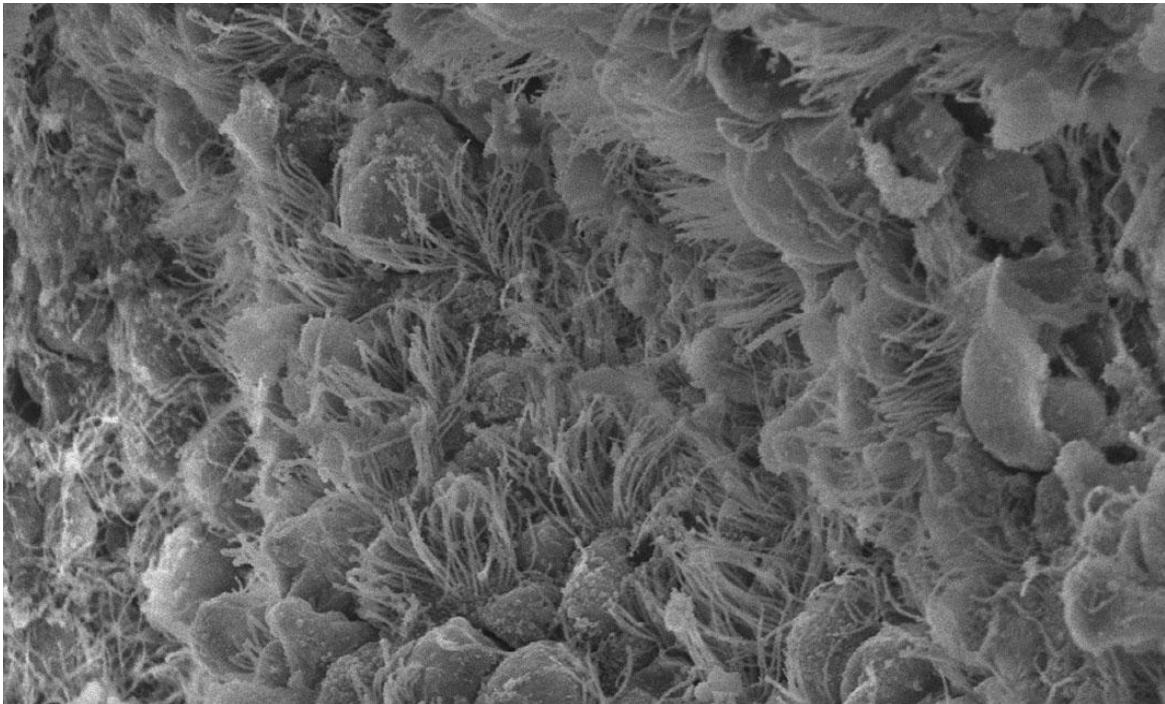
**Εικόνα 25.** Πνευμονική κυψελίδα νεογέννητου χοιριδίου: Χαλάρωση των κυτταρικών συνδέσεων των πνευμονοκυττάρων τύπου I (μαύρο βέλος), υπερπλασία κυψελιδικού τοιχώματος (προβολή κυταροπλάσματος πνευμονοκυττάρου τύπου II) (άσπρο βέλος).



**Εικόνα 26.** Πνευμονική κυψελίδα πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου: Χαλάρωση των κυτταρικών συνδέσεων των πνευμονοκυττάρων τύπου I (βέλος κάτω δεξιά) και παρουσία ερυθροκυττάρων (μάυρα βέλη).

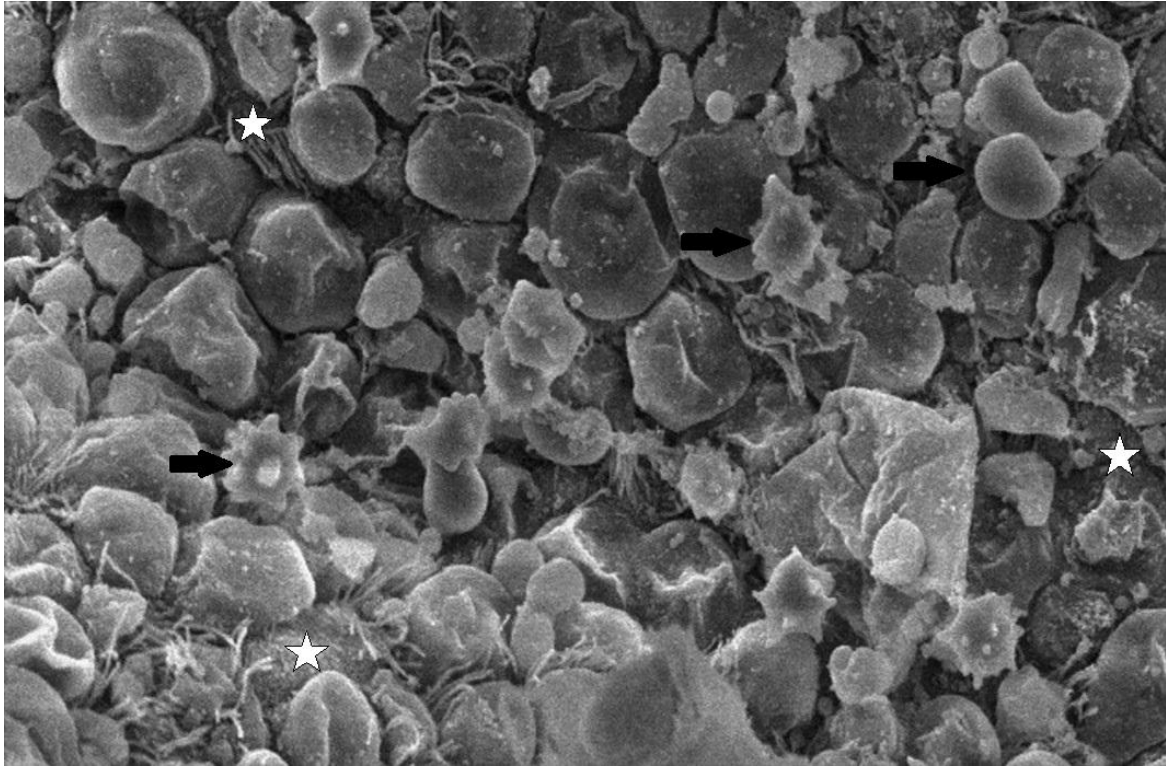


**Εικόνα 27.** Βρογχιόλιο από πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου: Παγίδευση ερυθροκυττάρων (μαύρα βέλη) στη βλέννη (άσπρο βέλος).



**Εικόνα 28.** Βρογχιόλιο από πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου: εστίες απώλειας των κροσσών.





**Εικόνα 29.** Βρογχιόλιο από πνεύμονα νεογέννητου χοιριδίου: απώλεια κροσσών (αστέρια) και παρουσία ερυθροκυττάρων (μαύρο βέλος).



# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ**

## **ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Στη σύγχρονη χοιροτροφία, στο πλαίσιο του προληπτικού προγράμματος που εφαρμόζουν οι εκτροφές κατά του RRRSV, κυρίαρχη θέση κατέχουν τα εμβόλια ΕΛΔ. Ωστόσο, πολλοί ερευνητές, παρά τη μεγάλη συμβολή αυτών των εμβολίων στον έλεγχο του νοσήματος, έχουν διατυπώσει ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια τους, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που χορηγούνται με τη μέθοδο του μαζικού εμβολιασμού (mass vaccination) (Labarque και συν. 2003, Nilubol και συν. 2004, Vanhee και συν. 2009, Papatsiros 2012b, Lunney και συν. 2016, Nan και συν. 2017). Κίνητρα για την διεξαγωγή της παρούσας έρευνας αποτέλεσαν: α) ο περιορισμένος αριθμός ερευνών που έχουν ασχοληθεί με τη διερεύνηση των πιθανών κινδύνων που συνδέονται με την εφαρμογή μαζικού εμβολιασμού (Benfield και συν. 1997, Rowland και συν. 2010, Papatsiros 2012b, Chae 2021, Papatsiros και συν.2022), β) ο σημαντικός αριθμός των ελληνικών χοιροτροφικών εκμεταλλεύσεων στις οποίες οι σύες εμβολιάζονται μαζικά κατά του RRRSV. Μάλιστα, σε σημαντικό αριθμό εκτροφών πραγματοποιούνται εμβολιασμοί χωρίς να εξαιρούνται οι έγκυες σύες που βρίσκονται μετά την 90<sup>η</sup>-95<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους, με συνέπεια τον κίνδυνο πρόκλησης κάθετης μόλυνσης των εμβρύων τους (Karniychuk και Nauwynck 2013, Bandrick και συν. 2014, Hsueh και συν. 2021). Πρόσφατη έρευνα στην Ελλάδα έδειξε ότι ο μαζικός εμβολιασμός των σιών στα τελευταία στάδια της κυοφορίας αποτελεί σημαντικό παράγοντα επικινδυνότητας για την ανίχνευση και την κυκλοφορία του ιού στις εκτροφές (Papatsiros και συν. 2022).

Στόχο της έρευνάς μας αποτέλεσε η διερεύνηση του συνόλου των επιπτώσεων του ΕΛΔ εμβολιασμού των εγκύων σιών κατά του ιού του RRRS στα τελευταία στάδια της κυοφορίας τους. Προς αυτήν την κατεύθυνση, συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη οι έγκυες σύες που βρίσκονταν στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας τους. Οι σύες του πειραματισμού, την 100<sup>η</sup> ημέρα της κύησής τους, εκτέθηκαν σε εμβολιακό στέλεχος του ιού με τη χρήση τεσσάρων διαφορετικών εμπορικών ΕΛΔ εμβολίων, που είναι διαθέσιμα στην Ελλάδα. Τέλος, έγινε αξιολόγηση της ασφάλειας της χρήσης των παραπάνω εμβολίων και καταγραφή των επιπτώσεων του εμβολιασμού στην υγεία και στις αποδόσεις των σιών και των νεογέννητων χοιριδίων τους, με έμφαση στο αναπνευστικό σύστημα των χοιριδίων.

## 1. Εκτίμηση των αποτελεσμάτων των ορολογικών εξετάσεων

### 1.1. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στις σύς

Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από το σύνολο των σιών του πειραματισμού, τα οποία εξετάστηκαν με τη μέθοδο της RT-PCR προκειμένου να διαπιστωθεί η πιθανότητα πρόκλησης ιαιμίας στις εμβολιασμένες σύς από το εμβολιακό στέλεχος του ιού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των εξετάσεων δεν διαπιστώθηκε ιαιμία σε καμία από τις σύς της μελέτης (κανένα θετικό δείγμα σε σύνολο 100 δειγμάτων, 0/100= 0%).

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, πολλοί ερευνητές έχουν αναφέρει περιπτώσεις κατά τις οποίες ο ΕΛΔ εμβολιασμός κατά του PRRSV σε έγκυες σύς στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας τους προκάλεσε ιαιμία διάρκειας εβδομάδων έως και μηνών (Benfield και συν. 1997, Scotti και συν. 2006, Murtaugh και Genzow 2011, Schelkopf και συν. 2014, Lunney και συν. 2016, Nan και συν. 2017). Αντίθετα, σε έρευνα των Scotti και συν. (2006), κατά τη διάρκεια της οποίας εμβολιάστηκαν σύες κατά του PRRSV με ΕΛΔ εμβόλια την 90<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους, δεν παρατηρήθηκε ιαιμία σε καμία. Συγκεκριμένα, μέσω της εξέτασης RT-PCR που διενεργήθηκε στα δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν 3, 5, 9, 12 και 21 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των σιών, διαπιστώθηκε ιαιμία μόνο σε όσες εξετάστηκαν 3 και 5 ημέρες μετά από αυτόν. Αντίθετα, σε καμία από αυτές δεν εντοπίστηκε «κυκλοφορία» του ιού όταν εξετάστηκαν 9, 12 και 21 ημέρες μετά τον εμβολιασμό τους. Η αποτυχία ανίχνευσης του ιού (σε ορισμένες από τις εμβολιασμένες σύς) αποδόθηκε στην ύπαρξη βραχυπρόθεσμης ιαιμίας, η οποία δεν κατέστη δυνατό να εντοπιστεί μετά τις 5 ημέρες από την έκθεση των σιών στο εμβολιακό στέλεχος του ιού. Οι Pedersen και συν. (2021), επίσης, δεν εντόπισαν ιαιμία σε σύς που είχαν εμβολιαστεί με ΕΛΔ εμβόλια σε διάφορα στάδια της κυοφορίας τους (από την 40<sup>η</sup> έως και την 100<sup>η</sup> ημέρα αυτής). Η εξέταση RT-PCR η οποία και «έδειξε» την απουσία ιαιμίας, διενεργήθηκε σε δείγματα αίματος που είχαν συλλεχθεί 14 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των σιών. Επομένως, υπάρχει η πιθανότητα και στη δική μας έρευνα ο χρόνος δειγματοληψίας των σιών να ευθύνεται για την απουσία διαπίστωσης ιαιμίας (λήψη δειγμάτων αίματος 15 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των σιών). Γενικά, η αιμοληψία αποτελεί παράγοντα καταπόνησης για τις σύς (Merlot και συν. 2011), με συνέπεια την πρόκληση αναπαραγωγικών

διαταραχών (αποβολές, μη κανονικές επιστροφές σε οίστρο) (Razdan 2003, Peltoniemi και συν. 2016). Για το λόγο αυτό η διενέργεια της αιμοληψίας των εγκύων συών στη δική μας έρευνα πραγματοποιήθηκε την ημέρα της κύησής τους, προκειμένου να αποφευχθεί ενδεχόμενη εμφάνιση τέτοιου είδους προβλημάτων.

Οι Stadler και συν. (2016) πραγματοποίησαν εμβολιασμούς με εμβόλια ΕΛΔ κατά του PRRS σε έγκυες σύς που βρίσκονταν τόσο στο μέσο όσο και στο τέλος της κυοφορίας τους και οι Cheon και Chae (2004) εμβολίασαν έγκυες σύς την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους επίσης, με ΕΛΔ εμβόλια που όμως περιείχαν στελέχη του τύπου-2 του ιού. Σε συμφωνία με τα ευρήματα της δικής μας αλλά και προηγούμενων μελετών (Scotti και συν. 2006, Pedersen και συν. 2021) δεν κατέστη δυνατή η ανίχνευση ιαιμίας μέσω της εξέτασης RT-PCR στα δείγματα αίματος, που συλλέγονταν καθημερινά έως και 14 μέρες μετά τον εμβολιασμό των συών. Οι Stadler και συν. (2016) και Cheon και Chae (2004) απέδωσαν την αποτυχία εντοπισμού της ιαιμίας στη χαμηλού επιπέδου αντιτύπωση του ιού, με αποτέλεσμα να μην είναι εφικτή η ανίχνευσή του με τη μέθοδο RT-PCR. Ενδεχομένως και στη δική μας έρευνα η απουσία ιαιμίας στις σύς να οφείλεται στην αδυναμία ανίχνευσης του ιού μέσω της εξέτασης RT-PCR λόγω του χαμηλού επιπέδου αντιτύπωσής του.

## ***1.2. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV στις σύς***

Τα δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν από τις σύς του πειραματισμού εξετάστηκαν με τη μέθοδο ELISA για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV. Η ανάλυση των σχετικών αποτελεσμάτων έδειξε την παρουσία ειδικών αντισωμάτων κατά του ιού στο σύνολο των συών της μελέτης. Τα συγκεκριμένα ευρήματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες, οι οποίες αναφέρουν παρουσία υψηλών τίτλων αντισωμάτων σε εμβολιασμένες σύς με ΕΛΔ εμβόλια, καθώς και ανάπτυξη χυμικής ανοσίας σε αυτές. Συγκεκριμένα, τίτλοι αντισωμάτων είναι δυνατόν να ανιχνευθούν 7 με 14 ημέρες από τη στιγμή του εμβολιασμού και να παραμείνουν σε υψηλές συγκεντρώσεις για μεγάλο χρονικό διάστημα (Navarro και συν. 2001, Brockmeier και συν. 2002, Labarque και συν. 2003, Murtaugh 2004, Guzman- Batista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Butler και συν. 2014, Hsueh και συν. 2021). Οι Batista και συν. (2004) και οι Reynaud και συν. (2004) κατέγραψαν, σε συνθήκες εκτροφής και αφού εμβολίασαν έγκυες σύς με ΕΛΔ εμβόλια, την αρχική παραγωγή αντισωμάτων 7 με

10 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και τον εντοπισμό των μέγιστων τιμών τους 2 με 4 εβδομάδες μετά. Ανίχνευσαν, μάλιστα, τίτλους αντισωμάτων στις σύς μέχρι και 300 ημέρες μετά τον εμβολιασμό τους. Αντίστοιχα, σε έρευνα των Madarong και συν. (2017) εντοπίστηκαν τίτλοι αντισωμάτων κατά του ιού 7 με 10 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των συών με ΕΛΔ εμβόλιο. Μάλιστα, στη συγκεκριμένη μελέτη οι τίτλοι των αντισωμάτων παρέμειναν σε υψηλά επίπεδα μέχρι και 84 ημέρες μετά τον εμβολιασμό. Στη δική μας μελέτη, η ανίχνευση των αντισωμάτων πραγματοποιήθηκε 15 ημέρες περίπου μετά τον ΕΛΔ εμβολιασμό των συών, ενώ δεν αποτέλεσε στόχο η μελέτη της διάρκειας της δυνατότητας ανίχνευσης αντισωμάτων στις εμβολιασμένες σύς.

### ***1.3. Ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του PRRSV στα χοιρίδια.***

Στην έρευνά μας συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από δύο αδύναμα χοιρίδια κάθε τοκετοομάδας από το σύνολο των συών του πειραματισμού. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε την ημέρα της γέννησής τους και κατόπιν εξετάστηκαν με τη μέθοδο RT-PCR προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη ιαμίας στις τοκετοομάδες. Με βάση τα αποτελέσματα των εξετάσεων ο ιός ανιχνεύθηκε σε 20 νεογέννητα χοιρίδια (20 θετικά από τα 200 δείγματα, 20/200= 10%). Ειδικότερα, διαπιστώθηκε κυκλοφορία του ιού στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 1 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Γ και είχαν εκτεθεί στο εμβολιακό στέλεχος VP-046BIS, καθώς και στις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 2 που ανήκαν στην ομάδα μελέτης Δ και είχαν εκτεθεί στο εμβολιακό στέλεχος 94881.

Πολλοί ερευνητές αναγνωρίζουν τη συμβολή των ΕΛΔ εμβολίων στον έλεγχο του νοσήματος, ενώ έχουν διατυπώσει και επιφυλάξεις σχετικά με την ασφάλεια τους (Labarque και συν. 2003, Nilubol και συν. 2004, Papatsiros και συν. 2006, Vanhee και συν. 2009, Papatsiros 2012b, Lunney και συν. 2016, Nan και συν. 2017). Σε σχετικές έρευνες έχει αναφερθεί η γέννηση ιαιμικών χοιριδίων από σύς που εμβολιάστηκαν με ΕΛΔ εμβόλια στο τέλος της κυοφορίας (Scortti και συν. 2006, Rowland 2010). Έχει παρατηρηθεί μάλιστα, ύπαρξη ιαιμίας σε ποσοστό από 55% έως και 80% σε νεογέννητα χοιρίδια εμβολιασμένων συών με τέτοιου είδους εμβόλια (Cano και συν. 2009, Schelpkof και συν. 2014, Garcia-Morante και συν. 2020). Με εξαίρεση τους Cano και συν. (2009), που διαπίστωσαν ιαιμία στα χοιρίδια 4 ημέρες μετά τη γέννησή τους, στις υπόλοιπες μελέτες η ανίχνευση του ιού

διαπιστώθηκε την ημέρα της γέννησής τους (Scotti και συν. 2006, Rowland 2010, Schelpkof και συν. 2014, Garcia-Morante και συν. 2020).

Το σύνολο των παραπάνω μελετών απέδωσε τη γέννηση ιαιμικών χοιριδίων στην κάθετη μόλυνση που, πιθανώς, οφείλεται στον εμβολιασμό των σுவών με ΕΛΔ εμβόλια. Οι ερευνητές υποστήριξαν ότι το εμβολιακό στέλεχος του ιού, στο οποίο είχαν εκτεθεί οι σύς στα πλαίσια των πειραματισμών τους, ήταν υπεύθυνο για την μόλυνση των εμβρύων. Στην παρούσα μελέτη σκοπός ήταν όχι μόνο η διερεύνηση της ιαιμίας στα RT-PCR θετικά χοιρίδια αλλά και της πιθανής πρόκλησης αλλοιώσεων κατά την ενδομήτρια ζωή τους. Ως εκ τούτου, διενεργήθηκε φυλογενετική ανάλυση στα RT-PCR θετικά δείγματα, τα οποία συλλέχθηκαν από νεογέννητα χοιρίδια που δεν είχαν προλάβει να θηλάσουν (0-3 ώρες από τη γέννησή τους). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι τα στελέχη του ιού που απομονώθηκαν στα RT-PCR θετικά χοιρίδια εμφάνιζαν υψηλά ποσοστά ομοιότητας με τα εμβολιακά στελέχη, που χορηγήθηκαν στις μητέρες τους και συγκεκριμένα: α) στις σύς της ομάδας μελέτης Γ στην εκτροφή 1 (ποσοστό ομοιότητας στελεχών του ιού = 98,7%) και β) στις σύς της ομάδας μελέτης Δ στην εκτροφή 2 (ποσοστό ομοιότητας στελεχών του ιού = 99,2%), αντίστοιχα. Συνεπώς, στην παρούσα μελέτη υποδεικνύεται ότι τα RT-PCR θετικά νεογέννητα χοιρίδια μολύνθηκαν από το εμβολιακό στέλεχος κατά την ενδομήτρια ζωή τους.

Οι Karniychuk και Nauwynck (2013) περιέγραψαν τον ακριβή τρόπο με τον οποίο ο ιός είναι ικανός να διαπεράσει τον πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα (Εικόνα 1). Γενικά, ο ενδοθηλιακός χοίρειος πλακούντας παρουσιάζει ιδιαίτερα πολύπλοκη δομή και λειτουργεί σαν φραγμός διαχωρίζοντας τη μητρική από την εμβρυϊκή κυκλοφορία (Navarro και συν. 2001, Guzman- Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021). Ο φραγμός αυτός είναι τόσο ισχυρός που εμποδίζει ακόμα και την διέλευση των μητρικών αντισωμάτων. Δεδομένου του σημαντικά μεγαλύτερου μεγέθους του γονιδιώματος του ιού (50-65 nm) σε σχέση με αυτό των μητρικών αντισωμάτων (12 nm), εύλογα θα μπορούσε να συμπεράνει κανείς ότι είναι δύσκολο ο ιός να διαπεράσει τον πλακούντα και ακολούθως να μολύνει τα έμβρυα (Karniychuk και Nauwynck 2013, Bandrick και συν. 2014, Hsueh και συν. 2021). Ωστόσο, οι Karniychuk και Nauwynck (2013) περιέγραψαν το μηχανισμό με τον οποίο ο PRRSV καταφέρνει να διαπερνά τον ισχυρό φραγμό του πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα, με κυριάρχο τον ρόλο έχουν των



μακροφάγων  $Sn^+$  και  $CD163^+$ . Οι Van Gorp και συν. (2008) απέδειξαν ότι ο PRRSV παρουσιάζει τροπισμό προς τα συγκεκριμένα μακροφάγα ( $Sn^+$  και  $CD163^+$ ), τα οποία εντοπίζονται στο ενδομήτριο και στον πλακούντα. Έτσι, κατά τη διάρκεια της ιαμίας των συών, ο ιός εισέρχεται στο ενδομήτριο, έρχεται σε επαφή με τα εύαλωτα σε αυτόν μακροφάγα, τα μολύνει και αντιτυπώνεται σε αυτά. Έπειτα, αφού πλέον ο ιός έχει προσκολληθεί στα μητρικά μακροφάγα, διασχίζει τον επιθηλιακό ιστό της μήτρας και την τροφοβλάστη. Ακολουθεί η αντιγραφή του στα μακροφάγα του πλακούντα και τελικά μέσω της ομφαλικής κυκλοφορίας εισέρχεται στην εμβρυϊκή κυκλοφορία (Mateusen και συν. 2007, Piriou- Guzylack και Salmon 2008, Van Gorp και συν. 2008, Cao και συν. 2013, Karniychuk και Nauwynck 2013, Karniychuk και συν. 2013).

Σε προηγούμενες έρευνες που περιελάμβαναν εμβολιασμούς έγκυων συών με ΕΛΔ εμβόλια χορηγούμενων στο μέσο της κυοφορίας τους δεν αναφέρθηκε γέννηση RT- PCR θετικών χοιριδίων, συμπεραίνοντας ότι ο εμβολιασμός τους τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή είναι ασφαλής (Christianson και συν. 1993, Lager και συν. 1997, Kranker και συν. 1998, Pileri και συν. 2016, Stadler και συν. 2016, Sung και συν. 2018). Το συμπέρασμα αυτό εξηγείται από τη μελέτη των Karniychuk και Nauwynck (2009), οι οποίοι προσδιόρισαν διαφορετικές συγκεντρώσεις στις οποίες τα μακροφάγα  $Sn^+$  και  $CD163^+$  εντοπίζονται στο ενδομήτριο και στον πλακούντα ανάλογα με το στάδιο κυοφορίας των συών. Συγκεκριμένα, διαπίστωσαν ότι τα συγκεκριμένα μακροφάγα εντοπίζονται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις πριν από την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας, ενώ μετά την 80<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας και κατά το τελευταίο στάδιο αυτής, οι συγκεντρώσεις τους αυξάνονται κατακόρυφα. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω δεδομένα (Karniychuk και Nauwynck 2009, 2013) προκύπτει ότι ο εμβολιασμός των συών κατά του PRRS με εμβόλια ΕΛΔ στο τέλος της κυοφορίας τους μπορεί να προκαλέσει στην κάθετη μετάδοση του ιού στα έμβρυα και επομένως τη μόλυνσή τους. Σύμφωνα με τα ευρήματα της δικής μας έρευνας, μπορεί να υποστηριχθεί ότι η μόλυνση των χοιριδίων κατά την ενδομήτρια ζωή και ο σχετικός μηχανισμός μπορεί να εξηγηθεί από τα ευρήματα των παραπάνω μελετών, καθώς οι σύες του παρόντος πειραματισμού είχαν εκτεθεί στο ΕΛΔ εμβολιακό στέλεχος του ιού την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους.

Οι Reynaud και συν. (2004) επισήμαναν ότι ο εμβολιασμός των έγκυων συών κατά του PRRS με ΕΛΔ εμβόλιο είναι πιθανό να οδηγήσει σε αυξημένη μεταφορά μητρικών αντισωμάτων στα

νεογέννητα και επομένως σε μείωση του ποσοστού των αιμικών χοιριδίων. Δεδομένης της διαφοράς στην κατανομή του αριθμού των χοιριδίων που βρέθηκαν θετικά στον ιό σε σχέση με τη χρονική στιγμή που διενεργήθηκε η αιμοληψία τους, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με αυτά των προαναφερόμενων ερευνητών. Συγκεκριμένα, το 37,5% (12/32 = 37, 5%, Πίνακας 12) των χοιριδίων στα οποία πραγματοποιήθηκε αιμοληψία αμέσως μετά τη γέννησή τους (0-3 ώρες), χωρίς να έχουν λάβει πρωτόγαλα, βρέθηκαν RT-PCR θετικά στον ιό. Αντίθετα, μόνο το 4,7% (8/168 = 4, 7%, Πίνακας 12) των υπόλοιπων χοιριδίων του πειραματισμού, τα οποία είχαν θηλάσει και κατανάλωσαν κάποια ποσότητα πρωτογάλακτος, βρέθηκαν RT-PCR θετικά.

Οι Eclercy και συν. (2021) και οι Zhou και συν. (2021) υποστήριξαν ότι τα στελέχη του ιού των ΕΛΔ εμβολίων παρουσιάζουν παρόμοια γενετική ποικιλότητα και αστάθεια με τα φυσικά «άγρια» στελέχη αυτού. Διαπίστωσαν υψηλό ρυθμό εμφάνισης μεταλλάξεων και ανασυνδυασμού του γονιδιώματος των εμβολιακών στελεχών του ιού, με συνέπεια την αύξηση της μολυσματικότητάς τους και την πρόκληση κλινικής νόσου με αναπαραγωγικές διαταραχές και αναπνευστικά συμπτώματα. Επιπροσθέτως και ο Chae (2020) υποστήριξε ότι η αποτελεσματική προστασία που επιτυγχάνεται μέσω της χορήγησης ενός συγκεκριμένου ΕΛΔ εμβολίου έναντι του στελέχους του ιού που κυκλοφορεί στην εκτροφή, δεν αποτελεί σαφή ένδειξη του βαθμού προστασίας που παρέχουν τα διάφορα εμπορικά ΕΛΔ εμβόλια. Παρατήρησε μάλιστα, ότι η χορήγηση διαφορετικών εμπορικών ΕΛΔ εμβολίων κατά του PRRSV, σε συγκεκριμένη εκτροφή, απέφερε διαφορετικά αποτελέσματα στον έλεγχο της νόσου, καθώς ορισμένα εμβόλια παρουσίασαν αυξημένη μολυσματικότητα σε σχέση με άλλα ΕΛΔ εμβόλια. Συνεπώς, υπάρχει η πιθανότητα στις διάφορες εκτροφές του πειραματισμού μας, ορισμένα εμβολιακά στελέχη (VAC2 στην εκτροφή 1 και VAC3 στην εκτροφή 2) επίσης να παρουσίασαν αυξημένη μολυσματικότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα ΕΛΔ εμβόλια που χορηγήθηκαν, και να προέκυψε η γέννηση RT-PCR θετικών στον ιό χοιριδίων.

Συνοψίζοντας, η παρούσα μελέτη αποδεικνύει ότι η εφαρμογή του μαζικού εμβολιασμού των σιών κατά του PRRSV με ΕΛΔ εμβόλια την τελευταία εβδομάδα της κυοφορίας, αποτελεί σημαντικό παράγοντα επικινδυνότητας για τη μόλυνση των εμβρύων. Συνεπώς, συνίσταται η αποφυγή του ΕΛΔ εμβολιασμού των σιών κατά του PRRSV στο τέλος της κυοφορίας και ειδικά την τελευταία εβδομάδα.

#### **1.4. Ανίχνευση αντισωμάτων κατά του του PRRSV σε χοιρίδια την 1η ημέρα ζωής τους**

Στα δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν από τα αδύναμα χοιρίδια των τοκετοομάδων των συών του πειραματισμού διενεργήθηκαν εξετάσεις ELISA για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του PRRSV. Τα σχετικά αποτελέσματα έδειξαν την παρουσία ειδικών αντισωμάτων κατά του ιού στην πλειοψηφία των χοιριδίων που εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε η ύπαρξη αντισωμάτων στο 90, 5% των χοιριδίων. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι σε χοιρίδια στα οποία η δειγματοληψία είχε πραγματοποιηθεί 6-9 ώρες μετά τη γέννησή τους, ανιχνεύθηκαν υψηλότεροι τίτλοι αντισωμάτων σε σχέση με τα χοιρίδια των οποίων τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν αμέσως μετά (0-3 ώρες) ή λίγο αργότερα (3-6 ώρες) από τη γέννησή τους (Πίνακες 12, 13).

Σε πειραματισμούς που περιελάμβαναν μαζικό εμβολιασμό των συών κατά του PRRSV με ΕΛΔ εμβόλια, έχει αναφερθεί παρουσία υψηλών τίτλων αντισωμάτων κατά του ιού σε νεογέννητα χοιρίδια, εφόσον είχαν θηλάσει και προσλάβει την απαραίτητη ποσότητα πρωτογάλακτος (Niewiesk 2014, Fablet και συν. 2016, Kraft και συν. 2019, Renson και συν. 2019). Το πρωτόγαλα θεωρείται ως η μοναδική οδός λήψης μητρικής ανοσίας για τα νεογέννητα χοιρίδια (Navarro και συν. 2001, Guzman- Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021). Η πολύπλοκη δομή του χοίρειου πλακούντα διαχωρίζει τη μητρική από την εμβρυϊκή κυκλοφορία μέσω της παρουσίας διαφορετικών «στρωμάτων»: μητρικά αιμοφόρα αγγεία, συνδετικός ιστός ενδομητρίου, μητρικό επιθήλιο, τροφοβλάστη, μεσέγγυμα εμβρυϊκού πλακούντα και εμβρυϊκά αιμοφόρα αγγεία. Ο χοίρειος πλακούντας λειτουργεί σαν φραγμός που εμποδίζει τη μεταφορά των μητρικών αντισωμάτων στα έμβρυα σε όλη τη διάρκεια της κυκλοφορίας των συών καθιστώντας το πρωτόγαλα ως τη μοναδική οδό ανοσοποίησης των νεογέννητων χοιριδίων (Greenwood και συν. 1994, Feng και συν. 1998, Navarro και συν. 2001, Karniyuchuk and Nauwynck 2013, Jacobsen και συν. 2016). Συνεπώς, το επίπεδο μητρικής ανοσίας που τα νεογέννητα χοιρίδια αποκτούν, εξαρτάται από την ποσότητα του πρωτογάλακτος που αυτά θα καταναλώσουν. Με δεδομένο ότι τα χοιρίδια προσλαμβάνουν μητρικά αντισώματα, κυρίως, τις πρώτες έξι ώρες μετά τη γέννησή τους μέσω της κατανάλωσης πρωτογάλακτος (Bode και συν. 2010, Jacobsen και συν. 2016) εξηγούνται οι μεγάλες διαφορές που διαπιστώθηκαν μεταξύ των τίτλων αντισωμάτων των νεογέννητων χοιριδίων στην

παρούσα έρευνα. Συγκεκριμένα, η πλειοψηφία των νεογέννητων, στα οποία η αιμοληψία είχε διενεργηθεί αμέσως μετά τη γέννησή τους (0-3 ώρες), δεν είχαν θηλάσει με συνέπεια να μη λάβουν την απαραίτητη ποσότητα μητρικών αντισωμάτων. Αντίθετα, τα υπόλοιπα χοιρίδια της μελέτης που θήλασαν, έλαβαν επαρκείς ποσότητες πρωτογάλακτος. Συνεπώς, οι διαφορές των τίτλων αντισωμάτων που ανιχνεύθηκαν μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική συγκέντρωση πρωτογάλακτος, που τα χοιρίδια είχαν λάβει μέχρι τη στιγμή της δειγματοληψίας.

Εντούτοις, η ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων κατά του PRRSV στα χοιρίδια που η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε 0-3 ώρες μετά τη γέννησή τους (Πίνακες 12, 13, Γραφήματα 5, 6) αναδεικνύει διαφορές σε σχέση με προηγούμενες έρευνες, που ανέφεραν την ικανότητα του χοίρειου πλακούντα να λειτουργεί ως φραγμός μεταξύ της μητρικής και της εμβρυϊκής κυκλοφορίας, εμποδίζοντας τη μεταφορά μητρικών αντισωμάτων στα έμβρυα (Navarro και συν. 2001, Guzman-Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021). Σε μελέτες των Guzman- Bautista και συν. (2013) και των Bandrick και συν. (2014) που συλλέχθηκαν δείγματα ορών αίματος και από χοιρίδια που δε θήλασαν αλλά και από χοιρίδια που έλαβαν πρωτόγαλα, διαπιστώθηκαν μηδενικοί τίτλοι αντισωμάτων στα χοιρίδια που δεν είχαν θηλάσει μέχρι τη στιγμή της δειγματοληψίας τους και υψηλοί τίτλοι σε αυτά που είχαν καταναλώσει πρωτόγαλα. Αντίθετα, στην παρούσα έρευνα ανιχνεύθηκαν τίτλοι αντισωμάτων τόσο σε χοιρίδια που έλαβαν πρωτόγαλα, όσο και σε χοιρίδια που δεν είχαν λάβει. Οι Butler και συν. (2001) ανέφεραν τη δυνατότητα των μητρικών αντισωμάτων να εισέρχονται στην κυκλοφορία του εμβρύου ως αποτέλεσμα της *de novo* σύνθεσής τους. Ειδικότερα, κατά τη διάρκεια της έρευνάς τους κατέγραψαν, μέσω δοκιμών ELISA, την παρουσία μητρικών αντισωμάτων σε νεογέννητα χοιρίδια, τα οποία δεν είχαν λάβει πρωτόγαλα. Απέδωσαν την ανίχνευσή τους σε αποτέλεσμα *de novo* σύνθεσης, υποστηρίζοντας ότι είχε πραγματοποιηθεί λόγω διαφόρων περιβαλλοντικών αντιγόνων, που ενδεχομένως να υπήρχαν στην εμβρυϊκή κυκλοφορία. Τέτοιου είδους αντιγόνα είναι πιθανό να είναι και ιοί, οι οποίοι μπορούν να διαπερνούν τον πλακούντα και να περνούν στην εμβρυϊκή κυκλοφορία. Λαμβάνοντας υπόψη τα ευρήματα των Butler και συν. (2001) αλλά και ότι ο PRRSV μπορεί να διαπερνά το χοίρειο πλακούντα και να μολύνει τα έμβρυα (Karniychuk και Nauwynck 2013), τα ευρήματα της παρούσας μελέτης εξηγούνται πιθανώς από τη *de novo* σύνθεση των αντισωμάτων,

λόγω μόλυνσης των εμβρύων από τον εμβολιακό ιό μέσω του πλακούντα. Άλλωστε, το 37,5% των χοιριδίων των εμβολιασμένων συών που δε θήλασαν ήταν ταυτόχρονα και RT-PCR θετικά στον ιό.

Οι Pentšuk και συν. (2019), επίσης, ανέφεραν την ανίχνευση τίτλων μητρικών αντισωμάτων σε νεογέννητα χοιρίδια τα οποία δεν είχαν λάβει πρωτόγαλα. Ωστόσο, απέδωσαν την παρουσία τους σε βλάβες που παρατηρήθηκαν στην επιφάνεια του πλακούντα. Υποστήριξαν πως συνέπεια των βλαβών του πλακούντα ήταν να μη λειτουργεί πλέον ως ισχυρός φραγμός, διαχωρίζοντας τη μητρική από την εμβρυϊκή κυκλοφορία και εμποδίζοντας τη μεταφορά των μητρικών αντισωμάτων στα έμβρυα. Έτσι, υπέθεσαν ότι τα μητρικά αντισώματα κατάφεραν να τον διαπεράσουν και να εισέλθουν στην εμβρυϊκή κυκλοφορία. Στην παρούσα έρευνα δεν εξετάστηκε αν υπήρξαν βλάβες στην επιφάνεια του πλακούντα και συνεπώς δε μπορεί να αποδοθεί η παρουσία αντισωμάτων στα νεογέννητα χοιρίδια που δεν είχαν θηλάσει, στην απευθείας μεταφορά τους από τη μητρική στην εμβρυϊκή κυκλοφορία. Βέβαια, δεν αποκλείεται η πιθανότητα να υπήρξαν, πράγματι, βλάβες στον πλακούντα και μέσω αυτών να μεταφέρθηκαν μητρικά αντισώματα στα έμβρυα.

Τα ΕΛΔ εμβόλια προκαλούν συγκεκριμένες χυμικές και κυτταρικές ανοσολογικές αποκρίσεις, παρέχοντας αποτελεσματική προστασία έναντι ομόλογων και μερική έναντι των ετερόλογων στελεχών του ιού (Montaner- Tarbes και συν. 2019). Ο ιός παρεμποδίζει τις έμφυτες ανοσολογικές αντιδράσεις του χοίρου μέσω διαφόρων μηχανισμών. Η καθυστερημένη και χαμηλής συγκέντρωσης απόκριση εξουδετερωτικών αντισωμάτων αποτελεί έναν από τους κύριους μηχανισμούς. Η εμφάνισή τους προσδιορίζεται συνήθως μετά το πέρας 28 ημερών από τη στιγμή της μόλυνσης από τον ιό (Renukaradhya και συν. 2010). Επιπλέον, πολλοί ερευνητές αναφέρουν την ικανότητα του ιού να αναστέλλει τη λειτουργία των TNF και IL-1 (Chίου και συν. 2000, Lopez-Fuertes και συν. 2000), με συνέπεια την καθυστερημένη έναρξη της παραγωγής των T λεμφοκυττάρων (Bautista και συν. 1999, Meier και συν. 2003). Σε πολλές έρευνες έχει αναφερθεί η επαρκής προστασία που παρέχουν τα εξουδετερωτικά αντισώματα στα νεογέννητα χοιρίδια ακόμη και μέσω της παθητικής τους μεταφοράς κατά τη διάρκεια του θηλασμού, χωρίς ωστόσο να είναι ανιχνεύσιμη η ιαμία (Renukaradhya και συν. 2010). Σε αντίθεση με άλλες μελέτες, στην παρούσα έρευνα, η παρουσία ειδικών αντισωμάτων PRRSV ανιχνεύθηκε σε αρκετά RT-PCR θετικά (ιαμικά) χοιρίδια, τα οποία δεν είχαν προλάβει να λάβουν πρωτόγαλα. Πρέπει να αναφερθεί ότι στη μελέτη μας δεν πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της

κυτταρικής ανοσίας των νεογέννητων χοιριδίων. Συνεπώς, περαιτέρω διερεύνηση, κατά τη διεξαγωγή μελλοντικών δοκιμών, σχετικά με τις επιπτώσεις του ΕΛΔ εμβολιασμού των συών κατά του PRRSV στα τελευταία στάδια της κύησης τους θα παρουσίαζε ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

### **1.5. Αξιολόγηση αλλοιώσεων στο πνευμονικό παρέγχυμα**

Είναι πλέον γνωστό ότι κατά την είσοδο του ιού στον οργανισμό του χοίρου ακολουθεί η αρχική του αντιτύπωση στα κυψελιδικά πνευμονικά μακροφάγα και η μετέπειτα πρόκληση αλλοιώσεων στο πνευμονικό παρέγχυμα. Έπειτα, ο ιός διασπείρεται μέσω της αιματικής κυκλοφορίας και στους υπολοίπους ευαίσθητους σε αυτόν ιστούς και συγκεκριμένα στο θύμο αδένα, στο ήπαρ, στις αμυγδαλές, στους νεφρούς, στο σπλήνα, στην καρδιά και στα λεμφογάγγλια (Rossow και συν. 1996a, Zimmermann και συν. 2006, Snijder και συν. 2013, Lunney και συν. 2016). Στα πλαίσια του πειραματισμού διενεργήθηκε ευθανασία των χοιριδίων που εμφάνιζαν αναπνευστικά συμπτώματα (π.χ. δύσπνοια), χαμηλό ΣΒ γέννησης και αφυδάτωση. Μετά την ευθανασία ακολούθησε νεκροτομή, κατά τη διάρκεια της οποίας αξιολογήθηκαν οι πνεύμονες μακροσκοπικά και συλλέχθηκαν δείγματα πνεύμονα. Τα δείγματα αυτά εξετάστηκαν τόσο ιστοπαθολογικά, όσο και σε σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο για την αξιολόγηση ενδεχόμενων αλλοιώσεων λόγω πιθανής δράσης του εμβολιακού PRRSV στελέχους στα έμβρυα.

Κατά τη διάρκεια της μακροσκοπικής αξιολόγησης των δειγμάτων πνεύμονα εντοπίστηκαν διάχυτος αποχρωματισμός, αυξημένη ελαστικότητα του πνευμονικού παρεγχύματος και παρουσία οιδήματος που συνοδεύονταν από διάσπαρτες αιμορραγίες στα RT-PCR θετικά χοιρίδια. Αντίθετα, οι πνεύμονες των RT-PCR αρνητικών χοιριδίων δεν παρουσίασαν κάποια αξιοσημείωτη αλλοίωση. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με έρευνες που αναφέρονται στην παθογένεια του ιού και τις αλλοιώσεις που αυτός μπορεί να προκαλέσει στους πνεύμονες, όπως αποχρωματισμός, διάμεσο οίδημα και αυξημένη ελαστικότητα και αιμορραγίες που είναι δυνατό να προκληθούν στο πνευμονικό παρέγχυμα λόγω του PRRSV (Halbur και Bush 1997, Rossow και συν. 1998, Zimmerman και συν. 2006, 2012, 2019). Επιπλέον, σε μελέτες των Ming και συν. (2017) και των Alpizar και συν. (2018) εντοπίστηκαν αλλοιώσεις διάχυτου αποχρωματισμού συνοδευόμενες από αιμορραγίες σε πνεύμονες RT-PCR θετικών στον ιό χοιριδίων ηλικίας 6 και 8 εβδομάδων αντίστοιχα. Οι Halbur και συν. (1995) και οι Li

και συν. (2016) σε πειραματική μόλυνση χοιριδίων ηλικίας 4 και 3 εβδομάδων, αντίστοιχα, με στελέχη του ιού, παρατήρησαν αλλοιώσεις στο πνευμονικό παρέγχυμα των ιαιμικών χοιριδίων παρόμοιες με αυτές της παρούσας μελέτης, Ωστόσο, η διαφορά της παρούσας μελέτης σε σχέση με τις προηγούμενες έγκειται στην ηλικία των ζώων με ανεύρεση μακροσκοπικών αλλοιώσεων στους πνεύμονες. Συγκεκριμένα, τα ευρήματα της έρευνάς μας αναφέρονται σε νεογέννητα ιαιμικά χοιρίδια των οποίων, μάλιστα, η μόλυνση διαφαίνεται από τον εμβολιασμό των σιών με ΕΛΔ εμβόλιο στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας τους και τη μετέπειτα κάθετη μετάδοση του ιού.

Στην ιστοπαθολογική εξέταση των δειγμάτων από νεογέννητα RT-PCR θετικά χοιρίδια διαπιστώθηκαν διάμεσο οίδημα του πνευμονικού παρεγχύματος, πάχυνση των κυψελιδικών χώρων λόγω διήθησης λεμφοκυττάρων και μακροφάγων, παρουσία ερυθροκυττάρων και υπερπλασία των πνευμονοκυττάρων τύπου II στις πνευμονικές κυψελίδες. Οι Wang και συν. (2017) και ο Fan (2019) έχουν περιγράψει τυπικές ιστολογικές αλλοιώσεις των πνευμόνων των προσβεβλημένων από τον PRRSV χοίρων. Αναφέρουν πως απόρροια του αρχικού πολλαπλασιασμού του PRRSV είναι η πρόκληση φλεγμονώδους κυτταρικής διήθησης με αποτέλεσμα την εμφάνιση διάμεσης πνευμονίας. Ειδικότερα, παρατηρείται διήθηση κυρίως λεμφοκυττάρων και μακροφάγων τα οποία μετέπειτα διεισδύουν στους κυψελιδικούς χώρους με συνέπεια την πάχυνση των κυψελιδικών διαφραγμάτων. Επιπρόσθετα, σε πολλές μελέτες διαπιστώνεται η υπερπλασία των πνευμονοκυττάρων τύπου II ως ακόμη μία χαρακτηριστική ιστοπαθολογική αλλοίωση που ο ιός είναι ικανός να προκαλέσει στον πνεύμονα (Ming και συν. 2017, Wang και συν. 2017, Fan 2019). Συνεπώς, οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που ανιχνεύθηκαν στα RT-PCR θετικά χοιρίδια της μελέτης μας συνάδουν με το μηχανισμό παθοφυσιολογίας που έχει περιγραφεί. Σε αντιστοιχία με τα ευρήματα μας, άλλοι ερευνητές πραγματοποίησαν ιστοπαθολογικές εξετάσεις σε πνεύμονες χοιριδίων τα οποία είχαν προηγουμένως εκτεθεί σε διάφορα στελέχη του ιού μέσω εμβολιασμού με ΕΛΔ εμβόλια, διαπιστώνοντας διάμεσο οίδημα στο πνευμονικό τους παρέγχυμα καθώς και πάχυνση των κυψελιδικών τους χώρων. Τα χοιρίδια των συγκεκριμένων ερευνών είχαν εκτεθεί στα διάφορα εμβολιακά στελέχη του ιού από την ηλικία των 3 εβδομάδων και αργότερα (Halbur και συν. 1995, Li και συν. 2016, Ming και συν. 2017, Alpizar και συν. 2018). Επιπλέον, ο Gomez (2018) πραγματοποίησε ιστοπαθολογικές εξετάσεις σε πνεύμονες χοίρων ηλικίας 4 εβδομάδων που

εμφάνιζαν συμπτώματα λόγω μόλυνσης από τον PRRSV. Κατά τη διάρκεια της μικροσκοπικής εξέτασης διαπιστώθηκε, σε συμφωνία με τα ευρήματά μας, συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων και κυρίως λεμφοκυττάρων και μακροφάγων στους κυψελιδικούς χώρους. Η πρωτοτυπία της έρευνας μας υπήρξε η διερεύνηση για πρώτη φορά της ενδεχόμενης δράση εμβολιακού PRRSV στα χοιρίδια κατά την ενδομήτρια ζωή τους. Στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε η πρόκληση αλλοιώσεων σε νεογέννητα χοιρίδια λόγω της έκθεσής τους σε εμβολιακό εξασθενημένης λοιμογόνου δύναμης κατά την ενδομήτρια ζωή τους. Οι αλλοιώσεις είναι ανάλογες με αυτές που έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες έρευνες σε χοιρίδια, όμως, μεγαλύτερης ηλικίας και τα οποία μολύνθηκαν από φυσικό «άγριο» ιό.

Η παρατήρηση των δειγμάτων πνεύμονα στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε την παρουσία παρόμοιων αλλοιώσεων με αυτές που εντοπίστηκαν κατά την ιστοπαθολογική τους εξέταση. Συγκεκριμένα, ανιχνεύθηκαν συγκεντρώσεις συσσωρευμένων λεμφοκυττάρων, μακροφάγων και πρωτεϊνικού υλικού στις πνευμονικές κυψελίδες των RT-PCR θετικών χοιριδίων. Οι Xiao και συν. (2010) και οι Senthilkumar και συν. (2019) έχουν περιγράψει τον μηχανισμό μέσω του οποίου ο PRRSV ευθύνεται για την πρόκληση αλλοιώσεων και την εκδήλωση κλινικής νόσου στους χοίρους. Αναφέρουν τροπισμό του ιού προς τα πνευμονικά κυψελιδικά μακροφάγα και την ακόλουθη απόπτωση που προκαλεί σε αυτά. Αποτέλεσμα του συγκεκριμένου μηχανισμού παθογένειας είναι η δημιουργία φλεγμονής και η παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως λεμφοκυττάρων και μακροφάγων. Επιπλέον, οι Halbur και συν. (1995) και οι Collins και συν. (1996) μελέτησαν τις αλλοιώσεις που ο ιός είναι ικανός να προκαλέσει στο χοίρο και διαπίστωσαν, μεταξύ άλλων, τη συσσώρευση λεμφοκυττάρων, μακροφάγων και πρωτεϊνικού υλικού αναμειγμένου με ερυθροκύτταρα στους πνευμονικούς κυψελιδικούς χώρους. Η εξέταση των δειγμάτων πνεύμονα στο σαρωτικό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκάλυψε παρουσία πρόσθετων αλλοιώσεων σε σχέση με αυτές που παρατηρήθηκαν κατά την ιστοπαθολογική τους εξέταση. Ειδικότερα, εντοπίστηκε χαλάρωση των συνδέσεων των πνευμονοκυττάρων τύπου I και υπερπλασία του τοιχώματος (προβολή κυτταροπλάσματος) των πνευμονοκυττάρων τύπου II. Το συγκεκριμένο εύρημα μπορεί να αποδοθεί σημαντικό στην κυτταροπαθογόνο δράση του εμβολιακού ιού. Ο PRRSV προκαλεί εκφύλιση και αποδιοργάνωση των πνευμονοκυττάρων τύπου I και η ανάπλαση που ακολουθεί επιτυγχάνεται μέσω



υπερπλασίας των πνευμονοκυττάρων τύπου II (Wang και συν. 2017, Fan 2019, Zimmerman και συν. 2012, 2019). Η συγκεκριμένη αλλοίωση έχει αναφερθεί από ερευνητές ως μία από τις πλέον χαρακτηριστικές για τις οποίες ευθύνεται ο PRRSV (Li και συν. 2016, Ming και συν. 2017, Alpizar και συν. 2018, Gomez και συν. 2018). Το σύνολο των αλλοιώσεων που ανιχνεύθηκαν στο πνευμονικό παρέγχυμα από την εξέτασή τους σε οπτικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν διατυπωθεί και σε προηγούμενες έρευνες. Ωστόσο, στις μελέτες αυτές οι αλλοιώσεις είχαν εντοπιστεί σε πνεύμονες χοίρων προσβεβλημένων από φυσικό στέλεχος του ιού και συγκεκριμένα σε ζώα μεγαλύτερης ηλικίας (ηλικίας εβδομάδων έως μηνών). Αντιθέτως, στην παρούσα έρευνα αλλοιώσεις εντοπίστηκαν σε πνεύμονες νεογέννητων χοιριδίων προσβεβλημένων από εμβολιακό στέλεχος του ιού εξασθενημένης λοιμογόνου δύναμης. Η πρωτοτυπία της δικής μας έρευνας εντοπίζεται στην διαπίστωση αλλοιώσεων στον πνεύμονα των νεογέννητων χοιριδίων λόγω της έκθεσής τους σε στέλεχος εξασθενημένου εμβολιακού ιού και οι οποίες προκλήθηκαν κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής τους. Λαμβάνοντας υπόψη τις παρατηρήσεις των παραπάνω προηγούμενων ερευνών, συμπεραίνουμε ύστερα από εμβολιασμό των εγκύων συών με ΕΛΔ εμβόλιο στο τέλος της κυοφορίας τους ο εμβολιακός ιός είναι δυνατόν να προκαλέσει αλλοιώσεις στους πνεύμονες των χοιριδίων.

Επιπρόσθετα, κατά τη διάρκεια της ιστοπαθολογικής εξέτασης των δειγμάτων πνεύμονα προέκυψε ακόμη ένα εύρημα που χρήζει αναφοράς. Ειδικότερα, διαπιστώθηκαν ήπιου βαθμού αλλοιώσεις σε RT-PCR (-) χοιρίδια, τα οποία όμως ανήκαν σε τοκετομάδες συών οι οποίες είχαν εμβολιαστεί την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους. Τα ευρήματά μας αυτά, ενδεχομένως, να αποτελούν ένδειξη ότι ο ιός, παρόλο που δεν ανιχνεύθηκε με τη μέθοδο RT-PCR στο αίμα των χοιριδίων, μεταδόθηκε κάθετα και προκάλεσε στα έμβρυα ήπιου βαθμού αλλοιώσεις. Οι πιθανές αιτίες που δεν κατέστη δυνατή η απόδειξη ιαιμίας στα χοιρίδια αυτά έχουν αναλυθεί εκτενώς προηγουμένως. Σε κάθε περίπτωση, θεωρούμε ότι απαιτείται η διενέργεια περαιτέρω ερευνών προκειμένου να εξακριβωθεί η ικανότητα του εμβολιακού ιού να δρα ως φυσικός «άγριος» ιός, ειδικά σε περιπτώσεις που ο εμβολιασμός κατά του PRRSV διενεργείται στο τέλος της κύησης.

Από την εμφάνιση του PRRSV μέχρι και σήμερα σημαντικός αριθμός ερευνητών έχει ασχοληθεί με τη διερεύνηση της αιτιοπαθογένειας του συνδρόμου. Ωστόσο, ο ακριβής τρόπος δράσης του ιού δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί, παρόλο συνεχίζει να ευθύνεται για τεράστιες οικονομικές

απώλειες παγκοσμίως (Nieuwenhuis και συν. 2012, Holtkamp και συν. 2013, Nathues και συν. 2017, Renke και συν. 2021). Στην παρούσα έρευνα επιχειρήθηκε να μελετηθεί η διερεύνηση των ενδεχόμενων αλλοιώσεων από τον εμβολιακό ιό τόσο με τη χρήση οπτικού όσο και σαρωτικού ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Η παρούσα έρευνα είναι η πρώτη που επικεντρώθηκε στη μελέτη των επιπτώσεων του εμβολιασμού των εγκύων συών με ΕΛΔ εμβόλια στους πνεύμονες των νεογέννητων χοιριδίων. Συνοψίζοντας, η συνδρομή του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου θα μπορούσε να ενισχύσει σημαντικά τις μελλοντικές προσπάθειες των ερευνητών στην πλήρη κατανόηση του τρόπου δράσης του ιού.

## **2. Κλινική εκτίμηση συών μετά τον εμβολιασμό τους**

### ***2.1. Άμεση τοπική αντίδραση***

Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού σε όλες τις σύς διενεργήθηκε καθημερινή κλινική εξέταση για την καταγραφή πιθανών ευρημάτων τοπικής αντίδρασης (ερυθρότητα, οίδημα, θερμότητα και πόνος κατά την ψηλάφηση στο σημείο έγχυσης του εμβολίου), αλλά και γενικότερων διαταραχών της υγείας τους. Δεν διαπιστώθηκαν δυσμενείς επιδράσεις από τον εμβολιασμό στην κατάσταση της υγείας των συών και τη συμπεριφορά τους ούτε τοπικές αντιδράσεις στο σημείο έγχυσης του εμβολίου.

Στα περισσότερα ΕΛΔ εμβόλια των χοίρων χρησιμοποιούνται διάφορα ανοσοενισχυτικά, όπως τα άλατα αργιλίου (π.χ. υδροξείδιο του αργιλίου) και τα ελαιο- υδατικά γαλακτώματα (Thacker και συν. 2000). Παλαιότερα, τα διάφορα ανοσοενισχυτικά των ΕΛΔ εμβολίων είχαν κατηγορηθεί για την πρόκληση τοπικών αντιδράσεων στο σημείο της έγχυσης (Gupta και Siber 1994, Thacker και συν. 2000). Πλέον, έχει επικρατήσει η χρήση καρβομερών ως ανοσοενισχυτικά στα κτηνιατρικά ΕΛΔ εμβόλια. Πρόκειται για πολυμερή ακρυλικού οξέος που έχει αποδειχθεί πως προκαλούν ισχυρή χυμική ανοσία και αποκρίσεις T-κυττάρων σε μικρότερο βαθμό (Singla και συν. 2000, Jelena και συν. 2005, Valtulini και συν. 2005).

Γενικά, ένα αποτελεσματικό εμβόλιο είναι απαραίτητο να εξασφαλίζει την καλύτερη δυνατή προστασία του ζώου και παράλληλα να πληρεί συγκεκριμένες προϋποθέσεις. Σε αυτές περιλαμβάνεται, κυρίως, η ασφάλεια που παρέχει στα ζώα που χορηγείται. Ειδικότερα, τα

κτηνιατρικά εμβόλια που διατίθενται στο εμπόριο δεν θα πρέπει να προκαλούν προβλήματα στα ζώα (π.χ. τοπική αντίδραση στο σημείο έγχυσης). Ο Tizard (2004) ανέφερε ότι αλλεργικές αντιδράσεις, πρόκληση νόσου σε ανοσοκατεσταλμένα ζώα και νευρολογικές διαταραχές αποτελούν τους σημαντικότερους κινδύνους που συνδέονται με τη χρήση των εμβολίων. Συνοψίζοντας, η χρήση των ΕΛΔ εμβολίων μπορεί να θεωρηθεί ασφαλής για χορήγηση στις εσές όσον αφορά την πρόκληση τοπικών αντιδράσεων στο σημείο της χορήγησής τους ή άλλου είδους παρενεργειών.

## **2.2. Αναπαραγωγικές αποδόσεις σιών**

Σε όλες τις σύς του πειραματισμού έγινε καταγραφή των αναπαραγωγικών τους παραμέτρων. Από την εκτίμηση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι ο εμβολιασμός των σιών με ΕΛΔ εμβόλιο, την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας, δεν προκάλεσε την εμφάνιση αναπαραγωγικών διαταραχών. Με δεδομένο ότι οι αποβολές στα τελευταία στάδια της κυοφορίας και οι πρόωροι τοκετοί αποτελούν χαρακτηριστικές αναπαραγωγικές διαταραχές της εκδήλωσης του PRRS στις εκτροφές (Halbur και Bush 1997, Benfield και συν. 1999, Cano και συν. 2009) δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στην πιθανή εμφάνιση των συγκεκριμένων αναπαραγωγικών συμπτωμάτων στις εμβολιασμένες σύς. Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού μας, οι σύες δεν παρουσίασαν αποβολές, ενώ μόλις δύο από αυτές (2/100 = 2%) γέννησαν πρόωρα, την 112<sup>η</sup> και 113<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας, αντίστοιχα. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνονται από αρκετές έρευνες, στις οποίες επίσης οι σύες εμβολιάστηκαν με ΕΛΔ εμβόλια κατά του PRRSV, στο τέλος της κυοφορίας τους (Cheon και Chae 2004, Scotti και συν. 2006, Stadler και συν. 2016) και δεν αναφέρθηκε η εμφάνιση αναπαραγωγικών διαταραχών.

Ωστόσο, σε ορισμένες μελέτες καταγράφηκαν περιστατικά εμφάνισης της οξείας μορφής του γενότυπου τύπου-2, τα οποία εκδηλώθηκαν σύντομα μετά τη χρήση ΕΛΔ εμβολίων που περιείχαν τονότυπο κατά του τύπου 2 του PRRSV τόσο στις εκτροφές που εμβολιάστηκαν οι σύες όσο και σε ανεμβολίαστες εκτροφές που γειτνιάζαν (Bøtner και συν. 1999, Nielsen και συν. 2001, 2002, Moura και συν. 2019, Kristensen και συν. 2020). Τα περιστατικά αυτά χαρακτηρίστηκαν από αποβολές και πρόωρους τοκετούς καθώς και από μετάδοση του εμβολιακού στελέχους του ιού από εμβολιασμένα σε ανεμβολίαστα ζώα. Με βάση τις παρατηρήσεις αυτές, υποστηρίχθηκε η άποψη ότι το εμβολιακό στέλεχος απέκτησε λοιμογόνο δύναμη, με επακόλουθο την ευρεία διασπορά του. Η διαφορετική

μολυσματικότητα που παρουσιάζουν τα διάφορα στελέχη του ιού, καθώς και η τάση τους να μεταλλάσσονται, είναι πιθανό να ευθύνεται για τα σοβαρά προβλήματα που καταγράφηκαν στις παραπάνω έρευνες (Murtaugh και συν. 1995, Choi και Chae 2001, Cheon και Chae 2004, Schelkopf και συν. 2014). Αντίθετα, στην παρούσα έρευνα δε διαπιστώθηκαν αντίστοιχα ευρήματα.

Σύμφωνα με τους Mengeling και συν. (2000) και τους Cano και συν. (2009) οι αποβολές που παρατηρούνται στα περιστατικά του PRRS οφείλονται όχι μόνο στην απευθείας δράση του ιού στο έμβρυο (μόλυνση μέσω του πλακούντα), αλλά ενδέχεται να είναι και απόρροια συστηματικής νόσου που προκαλεί ο ιός στη σύ. Στην παρούσα μελέτη αποκλείστηκαν λοιμογόνοι παράγοντες, που συνήθως ευθύνονται για την πρόκληση αναπαραγωγικών διαταραχών των συών, όπως *Leptospira* spp., *Brucella* spp., Aujeszky's disease, PCV2, Porcine Parvovirus, Swine Influenza virus, καθώς και οι μυκοτοξικώσεις.

### **3. Εκτίμηση κλινικής εικόνας των χοιριδίων μετά τον εμβολιασμό των συών**

Κατά τη διάρκεια του πειραματισμού διαπιστώθηκε ότι τα RT-PCR θετικά χοιρίδια ήταν περισσότερο επιβαρυνμένα σε σχέση με τα RT-PCR αρνητικά. Πιο συγκεκριμένα, στις τοκετοομάδες που διαπιστώθηκε ιαιμία, παρατηρήθηκε μειωμένος αριθμός γεννημένων ζωντανών χοιριδίων και αυξημένος αριθμός γεννημένων νεκρών, μουμιοποιημένων και ελλιποβαρών χοιριδίων αλλά και νεογέννητων που εμφάνισαν απαγωγή των άκρων τους (splay-leg) καθώς και πεπτικών (διάρροια) ή αναπνευστικών συμπτωμάτων (Πίνακες 8, 9 και Γράφημα 1). Ωστόσο, στις παραπάνω παρατηρήσεις δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων. Γεννήσεις μουμιοποιημένων και ελλιποβαρών χοιριδίων, καθώς και χοιριδίων με απαγωγή των οπισθίων άκρων τους ή αναπνευστικά προβλήματα, αποτελούν χαρακτηριστικές κλινικές διαταραχές της εκδήλωσης του PRRS (Zimmerman και συν. 1997, Benfield και συν. 1999, Brockmeier και συν. 2002, Chang και συν. 2002, Cano και συν. 2009). Αρκετοί ερευνητές έχουν, επίσης, περιγράψει περιστατικά μολυσμένων από τον PRRSV νεογέννητων χοιριδίων, τα οποία εμφάνισαν διάφορα συμπτώματα όπως: ληθαργικότητα, απάθεια, μικρό σωματικό βάρος στη γέννηση (Σ.Β. <1.000 gr), απαγωγή των άκρων και αναπνευστικά προβλήματα (έντονη μορφή δύσπνοιας) (Halbur και Bush 1997, Zimmerman και συν. 1997, Benfield και συν. 1999, Brockmeier και συν. 2002, Chang και συν. 2002, Butler και συν.

2014). Τα ευρήματα της έρευνάς μας συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες, στις οποίες δεν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιπτώσεις στα χοιρίδια που γεννήθηκαν από σύες εμβολιασμένες με ΕΛΔ εμβόλια στο τέλος της κυοφορίας τους (Schelkopf και συν. 2014, Stadler και συν. 2016).

Όσον αφορά την εμφάνιση συμπτωμάτων από το πεπτικό σύστημα σε ορισμένα χοιρίδια στις τοκετοομάδες που βρέθηκαν RT-PCR θετικά χοιρίδια, είναι δυνατόν να συνέβαλλε ο αυξημένος αριθμός των ελλιποβαρών χοιριδίων ( $\Sigma.B.<1.000$  gr) που διαπιστώθηκε στις συγκεκριμένες τοκετοομάδες. Παρατηρήθηκε ότι τα αδύναμα χοιρίδια δυσκολεύονταν να κατευθυνθούν προς τους μαστούς της χοιρομητέρας και να θηλάσουν με συνέπεια: α) κάποια νεογέννητα χοιρίδια να μην καταφέρουν να θηλάσουν και β) κάποια να λάβουν ανεπαρκή ποσότητα πρωτογάλακτος. Άλλωστε, τα αδύναμα χοιρίδια δυσκολεύονται να θηλάσουν και συνεπώς καταναλώνουν μικρές ποσότητες πρωτογάλακτος, γεγονός που προδιαθέτει στην εμφάνιση υποθερμίας και δευτερογενών λοιμώξεων (Wills και συν. 2000, Choi και Chae 2001, Brockmeier και συν. 2002, Done 2003, Dorr και συν. 2007, Cano και συν. 2009, Lunney και συν. 2016). Στην επιβάρυνση της υγείας των χοιριδίων είναι δυνατό να συμβάλλει και το σύνδρομο της επιλόχειας υπογαλαξίας/δυσγαλαξίας που μπορεί να εμφανίζουν οι προσβεβλημένες από τον PRRSV σύες (Navarro και συν. 2001, Guzman-Bautista και συν. 2013, Bandrick και συν. 2014, Jacobsen και συν. 2016, Hsueh και συν. 2021). Ωστόσο, στην παρούσα έρευνα δε μπορούν να αποδοθούν οι διαταραχές της υγείας των χοιριδίων στις σύς με δεδομένο ότι δεν ανιχνεύθηκαν ιαιμία και προβλήματα υγείας σε αυτές. Συνεπώς, τα χοιρίδια από εμβολιασμένες σύες, ενδέχεται να εμφάνισαν αυξημένη προδιάθεση σε δευτερογενείς βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις, που προκάλεσαν την εμφάνιση πεπτικών συμπτωμάτων.

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας όσον αφορά την κλινική εικόνα των χοιριδίων διαπιστώνεται ότι η ιαιμία δεν είναι ξεκάθαρο αν επηρέασε τις αποδόσεις τους. Ο μειωμένος αριθμός των γεννημένων ζωντανών χοιριδίων και ο αυξημένος αριθμός των νεκρών, μουμιοποιημένων, ελλιποβαρών και χοιριδίων με απαγωγή των άκρων (splay-leg), καθώς και αναπνευστικά συμπτώματα που διαπιστώθηκε στην έρευνά μας δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Ωστόσο, τα αποτελέσματα των ιστοπαθολογικών εξετάσεων στους πνεύμονες των RT-PCR θετικών χοιριδίων, έδειξαν αλλοιώσεις που ενδεχομένως

επιρρέαζουν αρνητικά όχι μόνο τη λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος των χοιριδίων, αλλά τη γενικότερη κλινική κατάσταση και τις αποδόσεις τους.

### **Συμπεράσματα**

Από τη συνολική εκτίμηση των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής, τα συμπεράσματα που προέκυψαν από τον εμβολιασμό των νεαρών συών αντικατάστασης με ΕΛΔ εμβόλια κατά του PRRSV την τελευταία εβδομάδα της κυοφορίας τους, συγκεκριμένα την 100<sup>η</sup> ημέρα κυοφορίας, συνοψίζονται στα εξής:

1. Ο εμβολιασμός των συών με ΕΛΔ εμβόλια δεν προκάλεσε επιπτώσεις στην υγεία τους. Συγκεκριμένα, δεν διαπιστώθηκαν αυξημένες αναπαραγωγικές διαταραχές στις σύς, καθώς μόλις το 2% των ζώων του πειραματισμού γέννησαν πρόωρα, ενώ καμία δεν απέβαλε. Επίσης, σε καμία σύ του πειραματισμού δεν εμφανίστηκε τοπική αντίδραση ή παρενέργεια στο σημείο της έγχυσης.
2. Το εμβολιακό στέλεχος του PRRSV μπορεί να διαπερνά τον χοίρειο πλακούντα και ακολούθως να μολύνει τα έμβρυα, προκαλώντας αλλοιώσεις αρχόμενης διάμεσης πνευμονίας στα χοιρίδια
3. Στον όρο του αίματος των νεογέννητων χοιριδίων από εμβολιασμένες σύες είναι δυνατή η παρουσία ειδικών αντισωμάτων κατά του PRRSV, ενδεχομένως, ως αποτέλεσμα *de novo* σύνθεσής τους. Η *de novo* σύνθεση των αντισωμάτων αυτών προέκυψε λόγω της διαφαινόμενης μόλυνσης των χοιριδίων από το εμβολιακό στέλεχος του ιού και της παρουσίας του στην εμβρυϊκή κυκλοφορία.
4. Η έκθεση των νεογέννητων χοιριδίων κατά την ενδομήτρια ζωή τους σε εμβολιακό στέλεχος του PRRSV επηρέασε αρνητικά το αναπνευστικό τους σύστημα, προκαλώντας αλλοιώσεις αρχόμενης διάμεσης πνευμονίας.

Συνεπώς, ο ΕΛΔ εμβολιασμός των συών την τελευταία εβδομάδα της κυοφορίας αποτελεί παράγοντα αυξημένης επικινδυνότητας για τη μόλυνση των χοιριδίων κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής τους. Ως εκ τούτου, συνιστάται η αποφυγή του εμβολιασμού κατά του PRRSV με ΕΛΔ εμβόλια στο τέλος της κυοφορίας. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να εξακριβωθεί η ικανότητα του εμβολιακού ιού να δρα ως φυσικός «άγριος» ιός ακόμα και σε περιπτώσεις που ο εμβολιασμός κατά του PRRSV διενεργείται πριν την 100<sup>η</sup> ημέρα της κύησης.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΤΟΥ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ο Γιώργος Παπακωνσταντίνου αποφοίτησε από το Τμήμα Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, συνέχισε τις μεταπτυχιακές σπουδές ως υποψήφιος διδάκτορας στην Παθολογική Κλινική (Κλινική Παθολογίας Παραγωγικών Ζώων).

Εργάστηκε ως Υπότροφος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την παροχή επικουρικού διδακτικού και εργαστηριακού έργου στο Τμήμα Κτηνιατρικής στο πλαίσιο των έργων: α) «Υποστήριξη των εκπαιδευτικών δραστηριοτήτων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021 με την ενσωμάτωση ενισχυτικής διδασκαλίας επιπρόσθετα των κύριων διαλέξεων με Κωδικό φορέα χρηματοδότησης 1010700» (Ιούνιος 2021- Σεπτέμβριος 2021) και γβ) «Κλινική άσκηση και κλινική εκπαίδευση φοιτητών 5ου έτους- Επείγοντα περιστατικά» Δεκέμβριος 2021- Ιούλιος 2022:

Επίσης συμμετείχε ως Επιστημονικός Συνεργάτης σε εξής Ερευνητικά Προγράμματα της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας:

- Μελέτη της σημασίας των ιών PRRSV και PCV2 στην κλινική εκδήλωση του συνδρόμου PRDC των χοίρων καθώς και των αντίστοιχων εμβολιακών σχημάτων στον έλεγχο του συνδρόμου. Χρηματοδότης: Zoetis Hellas S.A. (διάρκεια: 16/09/2019 - 30/11/2021, κωδικός έργου Ε.Ε. Π.Θ.: 6252).
- Μελέτη εμβολιακών σχημάτων των χοιριδίων κατά PCV-2. Χρηματοδότης: Zoetis Hellas S.A. (διάρκεια: 12/10/2020 - 31/12/2021, κωδικός έργου Ε.Ε. Π.Θ.: 6612).
- Επίδραση πολυφαινολικού συμπληρώματος στην υγεία και στις αποδόσεις των χοιρομητέρων σε συνθήκες θερμικού στρες. Χρηματοδότης: LifeCircle Nutrition A.G. (διάρκεια: 01/06/2021 - 31/03/2022, κωδικός έργου Ε.Ε. Π.Θ.: 66898).
- «Ανάπτυξη μηχανισμού και παρακολούθηση των επίπεδων κυκλοφορίας του ιού του Δυτικού Νείλου στην Περιφέρεια Πελοπόννησο» (Χρηματοδότης: ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ Α.Ε.

ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΑΝΩΝΥΜΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ Ο.Τ.Α, κωδικός έργου Ε.Ε. Π.Θ.: 6201) Ιούλιος 2020- Νοέμβριος 2020).

Είναι συγγραφέας και έχει συμμετάσχει στη δημοσίευση 11 εργασιών σε διεθνή περιοδικά με κριτές και σε 2 εργασίες σε πλήρη πρακτικά συνεδρίων.



**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΤΗΣ  
ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

- 1) Papatsiros VG, Stylianaki I, **Papakonstantinou G**, Papaioannou N, Christodoulopoulos G. Case Report of Transmissible Gastroenteritis Coronavirus Infection Associated with Small Intestine and Brain Lesions in Piglets. *Viral Immunol.* 2019;32(1):63-67.
- 2) Papatsiros VG, Athanasiou LV, Spanou VM, Stylianaki I, **Papakonstantinou G**, Letsios M, Villioti CS, Tsekouras N, Maragkakis G, Papaioannou N, Christodoulopoulos G. First case of *Serratia liquefaciens* isolated from urinary tract infection in sows and associated clinicopathological and pathological findings. *Lett Appl Microbiol.* 2020;70(4):259-262.
- 3) Papatsiros VG, Stylianaki I, **Papakonstantinou G**, Tsekouras N, Bitchava D, Christodoulopoulos G, Papaioannou N. Histopathological Lesions Accompanied with First-Time Isolation of a PRRSV-2 Strain in Greece. *Viral Immunol.* 2020;33(8):1-6.
- 4) Papatsiros VG, Stylianaki I, Tsekouras N, **Papakonstantinou G**, Gómez- Nicolau NS, Letsios M, Papaioannou N. Exposure Biomarkers and Histopathological Analysis in Pig Liver After Exposure to Mycotoxins Under Field Conditions: Special Report on Fumonisin B1. *Foodborne Pathog Dis.* 2021;18(5):315-321.
- 5) Papatsiros VG, **Papakonstantinou G**, Meletis E, Tsekouras N, Maragkakis G, Bitchava D, Kostoulas P. Occurrence and Associated Risk Factors of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and Porcine Circovirus Type 2 Infections in Greece. *Viral Immunol.* 2022; 35(3):200-211.
- 6) **Papakonstantinou G**, Meletis E, Christodoulopoulos G, Tzika ED, Kostoulas P, Papatsiros VG. Heterologous Challenge with PRRSV-1 MLV in Pregnant Vaccinated Gilts: Potential Risk on Health and Immunity of Piglets. *Animals.* 2022;12:450.
- 7) Papatsiros VG, Argyris G, **Papakonstantinou G**, Meletis E, Tsekouras N, Kantas D, Kostoulas P. Evaluation of an on-farm method to assess colostrum IgG content in hyperprolific sows. *Anim. Repro. Sci.* 2022;239(3):106958.
- 8) Papatsiros VG, Katsogiannou EG, **Papakonstantinou G**, Michel, A., Petrotos, K., Athanasiou, LV. Effects of Phenolic Phytogetic Feed Additives on Certain Oxidative Damage Biomarkers and the

Performance of Primiparous Sows Exposed to Heat Stress under Field Conditions. *Antioxidants*. 2022;11(3):593.

- 9) Athanasiou, LV, Katsogiannou EG, Tsokana C, Dedousi A, Boutsini S, **Papakonstantinou G**, Papatsiros VG. Detection of Antibodies Against *Toxoplasma gondii* in Filter Paper-Dried Blood Dot Spots Compared with Serum in Pigs and Assessment of Variation Associated with Packed Cell Volume. *Foodborne Pathog Dis*. 2022;19(6):394-399.
- 10) **Papakonstantinou G**, Gougoulis D, Tsekouras N, Papatsiros G. Effects of injectable administration dexamethasone and/or vitamin E/Se in newborn piglets with low birth weight. Accepted for publication in *Veterinarski arhiv*.
- 11) Papatsiros VG, **Papakonstantinou G**, Meletis E, Bitchava D, Kostoulas P. Evaluation of PCV2 double vaccination in weaning piglets that reared for gilts under field conditions. Accepted for publication in *Veterinary Research Forum*.

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M. Q., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J. (2016). Ratification vote on taxonomic proposals to the international committee on taxonomy of viruses. *Archives of Virology*, *161*, 2921–49.
- Alexopoulos, C., Kritas, S. K., Kyriakis, C. S., Tzika, E., & Kyriakis S. C. (2005). Sow performance in an endemically porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)-infected farm after sow vaccination with an attenuated PRRS vaccine. *Veterinary Microbiology*, *111*(3-4), 151-157.
- Allan, G. M., McNeilly, F., & Ellis J. (2000). Experimental infection of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Archives of Virology*, *145*, 2421-2429.
- Alpizar, A., Segales, J., Martinez, S., Socci, G., Cordova, G., & Fajardo, R. (2018). Histopathological and virological findings in emaciated pigs from Mexico: an exploratory study. *Acta Veterinaria Brno*, *83*, 213-217.
- Amonsin, A., Kedkovid, R., Puranaveja, S., Wongyanin, P., Suradhat, S., Thanawongnuwech, R. (2009). Comparative analysis of complete nucleotide sequence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in Thailand (US and EU genotypes). *Viol J.* *6*:143.
- Andreyev, V. G., Wesley, R. D., Mengeling, W. L., Vorwald, A. C., & Lager, K. M. (1997). Genetic variation and phylogenetic relationships of 22 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) field strains based on sequence analysis of open reading frame 5. *Archives of Virology*, *142*, 993–1001.
- Bandrick, M., Ariza-Nieto, C., Baidoo, S. K., & Molitor, T. W. (2014). Colostral antibody-mediated and cell-mediated immunity contributes to innate and antigen-specific immunity in piglets. *Developmental & Comparative Immunology*, *43*(1), 114–120.

- Baron, T., Albina, E., Leforban, Y., Madec, F., Guilmoto, H., Plana-Duran, J., & Vannier, P. (1992). Report on the first outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. *Annales de Recherches Vétérinaire*, 23, 161-166.
- Batista, L., Pijoan, C., Dee, S., Olin, M., Molitor, M., Joo, H. S., Xiao, Z., & Murtaugh, M. (2004). Virological and immunological responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of gilts. *Canadian Journal Veterinary Research*, 68, 267-273.
- Bautista, E. M., Suarez, P. & Molitor, T. W. (1999). T cell responses to the structural polypeptides of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Archives of Virology*, 144, 117-134.
- Bautista, E. M., Faaberg, K. S., Mickelson, D., & McGruder, E. D. (2002). Functional properties of the predicted helicase of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virology*, 298, 258-270.
- Benfield, D. A., Nelson, E., Collins, J. E., Harris, L., Goyal, S. M., Bobinson, D., Christianson, W. T., Morrison, R. B., Gorcyca, D., & Chladek, D. (1992). Characterization of swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus (isolate ATCC VR-2332). *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 4, 127-133.
- Benfield, D. A., Christopher-Hennings, J., Nelson, E. A., Rowland, R. R. R., Nelson, J. K, Chase, C. C. L. D., & Collins J. E. (1997). Persistent fetal infection of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Proceedings of 28th Annual Meeting of American Association Swine Practitioners*, Quebec City, 455-458.
- Benfield, D. A., Collins, J. E., Dee, S. A., Halbur, P. G., Joo, H. S., Lager, K. M., Mengeling, W. L., Murtaugh, M. P., Rossow, K. D., Stevenson, G. W., & Zimmerman, J. J. (1999). Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Diseases of Swine (8th ed)*. Straw, B. E., DAllaire, S., Mengeling, W. L. & Taylor, D. J. pp, 201-232. Ames Iowa State University Press.
- Benjamin, N. (2018). Tips for proper selection of cleaning, disinfection products. *The Pig Site*. <https://pighealthtoday.com/tips-for-proper-selection-of-cleaning-disinfection-products/>.
- Benson, J. E., Yaeger, M. J., Ford, S. P. (2001). Effect of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus infection on the ovary and progesterone levels in the third trimester pregnant sows. *Theriogenology*, 56, 777-785.

- Beyer, J., Fithner, D., Schirrmeier, H., Polster, U., Weiland, E., & Wege, H. (2000). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): kinetics of infection in lymphatic organs and lung. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *14*, 814.
- Bierk, M. D., Dee, S. A., Rossow, K. D., Otake, S., Collins, J. E., & Molitor, T. W. (2001). Diagnostic investigation of chronic porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a breeding herd of pigs. *Veterinary Research*, *148*, 687-690.
- Blaha, T. (2000). The "colorful" epidemiology of PRRS. *Veterinary Research*, *31*, 71-83.
- Bode, G., Clausing, P., Gervais, F., Loegsted, J., Luft, J., Nogues, V., & Sims, J. (2010). The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, *62*, 196-220.
- Booth, C. M. (2018). Should you rotate disinfectants? Industry experts weigh in. *Pharmaceutical ONLINE*. <https://www.pharmaceuticalonline.com/doc/should-you-rotate-disinfectants-industry-experts-weigh-in-0001>.
- Bøtner, A., Nielsen, J., & Bille-Hansen, V. (1994). Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a Danish swine herd and experimental infection of pregnant gilts with the virus. *Veterinary Microbiology*, *40*, 351-360.
- Bøtner, A. (1997). Diagnosis of PRRS. *Veterinary Microbiology*, *55*, 295-301.
- Botner, A., Nielsen, J., Oleksiewicz, M. B., & Storgaard, T. (1999). Heterologous challenge with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) vaccine virus: no evidence of reactivation of previous European-type PRRS virus infection. *Veterinary Microbiology*, *68*, 187-195.
- Bowman, A. S., Nolting, J. M., Nelson, S. W., Bliss, N., Stull, J. W., Wang, Q., & Premanandan, C. (2018). Effects of disinfection on the molecular detection of porcine epidemic diarrhea virus. *Veterinary Microbiology*, *179*(3-4), 213-218.
- Brockmeier, S. L., Halbur, P. G., & Thacker, E. L. (2002). Porcine respiratory disease complex. *Polymicrobial Diseases*. Brogden, K. A. & Guthmiller, J. M. pp, 231-258. Washington ASM Press.

- Butler, J. E., Lager, K. M., Golde, W., Faaberg, K. S., Sinkora, M., Loving, C., & Zhang, Y. I. (2014). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an immune dysregulatory pandemic. *Immunology Research*, *59*, 81-108.
- Cai, X-H., Guo, B-Q., Liu, W-X., Chai, W-J., Yin, X-N., Wang, H-F., & Liu, Y-G. (2002). Immune protection of an inactivated vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome. *Proceedings of the 17th International Pig Veterinary Society Congress of Ames, Iowa, USA*, *2*, 177.
- Cao, J., Grauwet, K., Vermeulen, B., Devriendt, B., Jiang, P., Favoreel, H., & Nauwynck, H. (2013). Suppression of NK cell-mediated cytotoxicity against PRRSV-infected porcine alveolar macrophages in vitro. *Veterinary Microbiology*, *164*, 261–269
- Cano, J. P., Dee, S. A., Murtaugh, M. P., Rovira, A., & Morrison, R. B. (2009). Infection dynamics and clinical manifestations following experimental inoculation of gilts at 90 days of gestation with a low dose of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal Veterinary Research*, *73*, 303-307
- Cavanagh, D. (1997). Nidovirales: A new order comprising Coronaviridae and Arterividae. *Archives of Virology*, *142*(3), 29-633
- Chae, C. (2021). Commercial PRRS Modified-Live Virus Vaccines. *Vaccines*, *9*, 185
- Chang, C. C., Yoon, K. J., Zimmermann, J. J., Harmon, K. M., Dixon, P. M., Dvorak, C. M., & Murtaugh, M. P. (2002). Evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during sequential passages in pigs. *Journal of Virology*, *76*, 4750-4763.
- Chen, Q., Fang, L., Wang, D., Wang, S., Li, P., Li, M., Luo, R., Chen, H., & Xiao, S. (2012). Induction of autophagy enhances porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication. *Virus Research*, *163*(2), 650–655.
- Choi, C., & Chae, C. (2001). Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephrology syndrome by double-labelling. *Veterinary Pathology*, *38*(4), 436-441.

- Chiou, M. T., Jeng, C. R., Chueh, L. L., Cheng, C. H., & Pang, V. F. (2000). Effects of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (isolate tw91) on porcine alveolar macrophages in vitro. *Veterinary Microbiology*, *71*, 9-25.
- Christopher-Hennings, J., Nelson, E., Nelson, J., Rossow, K., Rowland, R., Yaeger, M., Chase, C., Benfield, D. A. (1997). Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. *American Journal of Veterinary Research*, *58*, 40-45.
- Christopher-Hennings, J. (2000). Reproductive disease diagnosis in swine. *Proceedings of the 31st Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners*, pp, 489-492
- Christopher-Hennings, J. (2002). Timeline of infection and detection of PRRSV in the boar. *Proceedings of Allen d. Leman Swine Conference*, *29*, 60-64.
- Christianson, W. T., Choi, C. S., Collins, J. E., Molitor, T. W., Morrison, R. B., & Joo, H. S. (1993). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome in midgestation sows and fetuses. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *57*, 262–268.
- Collins, J. E., Benfield, D. A., Christianson, W. T., Harris, L., Hennings, J. C., Shaw, D. P., Goyal, S. M., McCullough, S., Morrison, R. B., & Joo, H. S. (1992). 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*, *4*, 117-126.
- Collins, J., Dee, S., Halbur, P., Keffaber, K., Lautner, B., McCaw, M., Rodibaugh, M., Sanford, E., & Yeske, P. (1996). Laboratory diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. *Swine Health and Production*, *4*(1), 33-35.
- Costers, S., Lefebvre, D. J., Delputte, P. L., & Nauwynck, H. J. (2008). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus modulates apoptosis during replication in alveolar macrophages. *Archives of Virology*, *153*(8), 1453–1465.
- Crisci, E., Fraile, L., & Montoya, M. (2019). Cellular Innate Immunity against PRRSV and Swine Influenza Viruses. *Veterinary Sciences*, *6*, 26.

- Dai, G., Huang, M., Fung, T. S., & Liu D. X. (2020). Research progress in the development of porcine reproductive and respiratory syndrome virus as a viral vector for foreign gene expression and delivery. *Expert Review of Vaccines*, *19*(11), 1041- 1051.
- Dea, S., Bilodeau, R., Sauvageau, R., & Martineau, G. P. (1990). Virus isolations from farms in Quebec experiencing severe outbreaks of respiratory and reproductive problems. *Proceedings of Mystery Swine Diseases*, Denver, 67-72.
- Dea, S., Bilodeau, R., Athanaseous, R., Sauvageau, R., & Martineau, G. P. (1992a). Swine reproductive and respiratory syndrome in Quebec: Isolation of an enveloped virus serologically related to Lelystad virus. *Canadian Veterinary Journal*, *33*, 801-8.
- Dea, S., Bilodeau, R., Athanaseous, R., Sauvageau, R. A., & Martineau, G. P. (1992b). PRRS syndrome in Quebec: isolation of a virus serologically related to Lelystad virus. *Veterinary Record*, *130*(8), 167.
- Dea, S., Gagnon, G. A., Mardassi, H., Pirzadeh, B., & Rogan, D. (2000). Current knowledge on the structural proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus: comparison of the North American and European isolates. *Archives of Virology*, *145*, 659-688.
- Dee, S. A. (1996). The porcine respiratory disease complex: Are subpopulations important? *Swine Health Production*, *4*(3), 147-149.
- Dee, S. A., Joo, H. S., Park, B. K., Molitor, T. W., & Bruna, G. (1998). Attempted elimination of PRRS virus from a seedstock farm using breeding herd vaccination and nursery depopulation. *Veterinary Record*, *142*(21), 569-572.
- Dee, S. (2004). The science of PRRS: What do we really know about its transmission, diagnosis and control? *Proceedings of the 35th Annual Meeting of American Association of Swine Veterinarians*, Des Moines Marriott, 353-358.
- Dee, S., Deen, J., Burns, D., Douthit, G., & Pijoan, C. (2005). An evaluation of disinfectants for the sanitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus- contaminated transport vehicles at cold temperatures. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *69*(1), 64- 70.



- Delputte, P. L., Vanderheijden, N., Nauwynck, H.J., & Pensaert, M. B. (2002). Reproductive and Respiratory Syndrome Virus to a Heparinlike Receptor on Porcine Alveolar Macrophages. *Journal of Virology*, 76(9), 4312-4320.
- Dial, D., Hull, R. D., Olson, C. L., Hill, H. T., & Erickson, G. A. (1990). *Mysrey swine disease: implications and needs of the North American swine industry*, Denver, 10(6), 3-6.
- Done, S. H. (2001). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome: an update, with regard to vaccination. *Pig Journal*, 48, 159-175.
- Done, S. H. (2003). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus: an update. *Pig Journal*, 52, 206-233.
- Eclercy, J., Renson, P., Hirchaud, E., Andraud, M., Beven, V., Paboeuf, F., Rose, N., Blanchard, Y., & Bourry, O. (2021). Phenotypic and Genetic Evolutions of a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Modified Live Vaccine after Limited Passages in Pigs. *Vaccines*, 9(4), 392.
- Edwards, S., Robertson, I. B., & Wilesmith, J. W. (1992). PRRS ("blue-eared pig disease") in Great Britain. *Newsletter of American Association of Swine Practitioners*, 4, 32-36.
- Egli, C., Thur, B., Liu, L., & Hofmann, M. A. (2001). Quantitative TaqMan RT-PCR for the detection and differentiation of European and North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Virological Methods*, 98, 63–75.
- Fablet, C., Renson, P., Eono, F., Mahe, S., Eveno, E., & Le Dimna, M. (2016). Maternally-derived antibodies (MDAs) impair piglets' humoral and cellular immune responses to vaccination against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Veterinary Microbiology*, 192, 175–80.
- Fan, L. (2019). Signaling pathways involved in regulating apoptosis induction in host cells upon PRRSV infection. *Virus Genes*, 55(4), 433-439.
- Fetzer, C., Pesch, S., & Ohlinger, V. F. (2006). High risk of false positive results in a widely used diagnostic test for detection of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Veterinary Microbiology Article in press*.

- Feng, D., Nagy, J. A., Pyne, K., Dvorak, H. F., & Dvorak, A. M. (1998). Neutrophils emigrate from venules by a transendothelial cell pathway in response to FMLP. *Journal of Experimental Medicine*, 187, 903–915.
- Feng, W. H., Laste, S. M., Tompkins, M., Brown, T. T., Xu, J. S., Altier, C., Gomez, W., Benfield, D., & McCaw, M. B. (2001). In utero infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus is sufficient to increase susceptibility of piglets to challenge with *Streptococcus suis* type II. *Journal of Virology*, 75, 4889-4895.
- Forsberg, R., Storgaard, T., Nielsen, H. S., Oleksiewicz, M. B., Cordioli, P., Sala, G., Hein, J., & Botner, A. (2002). The genetic diversity of European type PRRSV is similar to that of the North American type but is geographically skewed within Europe. *Virology*, 20, 38–47.
- Garcia- Morante, B., Friedrich, R., Kaiser, T., Kraft, C., Bridger, P., & Noguera, M. (2020). Gilt Vaccination with a Mixed Administration of a PRRS MLV and a PPV1 Subunit Vaccine Protects against Heterologous PRRSV1 Infection and Prevents Detrimental Effects on Piglet Performance. *Viruses*, 12(8), 789.
- Girayd, M., Cleroux, P., Tremblay, P., Dea, S., & St Pierre, Y. (2001). *Journal of General Virology*, 82, 1253-1256
- Goldberg, T. L., Weigel, R. M., Hahn, E. C., & Scherba, G. (2000). Associations between genetics, farm characteristics and clinical disease in field outbreaks of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Preventive Veterinary Medicine*, 43, 293-302.
- Gntanu, G., & Mandescu, M. (2002). The economic effects of PRRSPRDC outbreak. *Proceedings of the 17th International Pig Veterinary Society Congress*, Ames, Iowa, 2, 434.
- Greenwood, J., Howes, R., & Lightman, S. (1994). The blood-retinal barrier in experimental autoimmune uveoretinitis. Leukocyte interactions and functional damage. *Laboratory Investigation*, 70, 39–52.
- Gupta, R. J., & Siber, G. R. (1994). Comparison of adjuvant activities of aluminium phosphate, calcium phosphate and stearyl tyrosine for tetanus toxoid. *Biologicals*, 22, 53-63
- Guzman-Bautista, E. R., Garcia-Ruiz, C. E., Gama- Espinosa, A. L., Ramirez- Estudillo, C., Rojas- Gomez, O. I., Vega-Lopez, M. A. (2013). Effect of age and maternal antibodies on the

- systemic and mucosal immune response after neonatal immunization in a porcine model. *Immunology*, 141, 609-616.
- Halbur, P. G., Paul, P. S., Frey, M. L., Landgraf, J., Ernissee, K., Meng, X. J., Lum, M. A., Andrews, J. J., & Rathje, J. A. (1995). Comparison of the pathogenicity of two U.S. porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Veterinary Pathology*, 32, 648-660.
- Halbur, P. G., Paul, P. S., Frey, M. L., Landgraf, J., Ernissee, K., Meng, X. J., Andrews, J. J., Lum, M. A., & Rathje, J. A. (1996a). Comparison of the antigen distribution of two U.S. porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Veterinary Pathology*, 33, 159-170.
- Halbur, P. G., Paul, P. S., Meng, X. J., Lum, M. A., Andrews, J. J., & Rathje, J. A. (1996b). Comparative pathogenicity of nine U.S. porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8, 11-20.
- Halbur, P. G., & Bush, E. (1997). Update on abortion storms and sow mortality. *Swine Health and Production*, 5(2), 73.
- Halbur, P. G., Thanawongnuwech, R., & Brown, G. (2000). Efficacy of treatment and vaccination regimens for control of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Streptococcus suis* coinfection of nursery pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 1156-1160.
- Hall, W., & Neumann, E. (2015). Fresh Pork and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus: Factors Related to the Risk of Disease Transmission. *Transboundary Emergency Diseases*, 62(4), 350-366.
- Harris, D. L., & Alexander, T. J. L. (1999). Methods of Disease Control. *Diseases of Swine (8th ed)*. Straw, B. E., D'Allaire, S., Mengeling, W. L., & Taylor, D. J. Ames Iowa State University Press, 1077.

- Hermann, J. R., Munoz- Zanzi, C. A., Roof, M. B., Burkhart, K., & Zimmerman, J. J. (2005). Probability of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection as a function of exposure route and dose. *Veterinary Microbiology*, 110(1-2), 7- 16.
- Holtkamp, D., Kliebenstein, J. B., Neumann, E. J., Zimmerman, J. J., Rotto, H. F., Yoder, T. K., Wang, C., Yeske, P. E., Mowrer, C. L., & Haley, C. (2013). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on U.S. pork producers. *Journal of Swine Health and Production*, 21(2), 72-84.
- Hopper, S. A., White, M. E., & Twiddy, N. (1992). An outbreak of blue-eared pig disease (porcine reproductive and respiratory syndrome) in four pig herds in Great Britain. *Veterinary Record*, 131, 140-144.
- Houston, D. M., & Radostits, O. M. (2000). The Clinical Examination. *Veterinary Clinical Examination and Diagnosis*. Radostits O.M. Mayhew I.G. Houston D.M (eds). W. B. Saunders Company, 91-124.
- Hsueh, F. C., Wang, S. Y., Lin, W. H., Lin, C. F., Tsai, C. Y., Huang, C. W., Sun, N., Chiou, M. T., & Lin, C. N. (2021). Correlation of Neutralizing Antibodies (NAbs) between Sows and Piglets and Evaluation of Protectability Associated with Maternally Derived NAbs in Pigs against Circulating Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) under Field Conditions. *Vaccines*, 9, 414. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050414>
- Jacobsen, B., Hill, M., Reynaud, L., Hey, A., & Barrow, P. (2016). FcRn Expression on Placenta and Fetal Jejunum during Early, Mid-, and Late Gestation in Minipigs. *Toxicology Pathology*, 44(3), 486- 491.
- Jelena, P., Djuric, Z., Jovanovic, M., Ibrić, S., Kilibarda, V., & Jovanovic, D. (2005). Biopharmaceutical characterization of sustained release matrix tablets based on novel carbomer polymers: formulation and in vivo investigation. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 30, 99–104.
- Jeong, J., Park, C., Choi, K., & Chae, C. (2017). Evaluation of the new commercial recombinant chimeric subunit vaccine PRRSFREE in challenge with heterologous types 1 and 2 porcine

- reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 81(1), 12- 21.
- Jiang, P., Chen, P. Y., Dong, Y. Y., Cai, J. L., Cai, B. X., & Jiang, Z. H. (2000). Isolation and genome characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in P.R. China. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 12, 156-158.
- Joisel, F., Reynaud, G., Charreyre, C., & Herin, J. B. (2001). PRRS: Vaccination with a killed vaccine: field experience. *The Pig Journal*, 48, 120-137.
- Indik, S., Valicek, L., Klein, D., & Klanova, J. (2000). Variations in the major envelope glycoprotein GP5 of Czech strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology*, 81, 2497–2502.
- Kang, I., Ha, Y., Kim, D., Oh, Y., Cho, K. D., Lee, B. H., Lim, J., Kim, S. H., Kwon, B., & Chae, C. (2010). Localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in mammary glands of experimentally infected sows. *Research Veterinary Sciences*, 88, 304–306.
- Kappes, M. A., & Faaberg, K. S. (2015). PRRSV structure, replication and recombination: Origin of phenotype and genotype diversity. *Virology*, 479-480, 475-486.
- Karniychuk, U. U., & Nauwynck, H. J. (2009). Quantitative changes of sialoadhesin and CD163 positive macrophages in the implantation sites and organs of porcine embryos/fetuses during gestation. *Placenta*, 30, 497–500.
- Karniychuk, U. U., & Nauwynck, H. (2013). Pathogenesis and prevention of placental and transplacental porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Veterinary Research*, 44, 95.
- Karniychuk, U. U., De Spiegelare, W., & Nauwynck, H. J. (2013). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection is associated with an increased number of Sn-positive and CD8-positive cells in the maternal-fetal interface. *Virus Research*, 176, 285–291.
- Keffaber, K. K. (1989). Reproductive failure of unknown etiology. *Newsletter of American Association of Swine Practitioners*, 1, 1-10.

- Keffaber, K., Stevenson, G., Van Alstine, W., Kanitz, C., Harris, I., Gorcyca, D., Schlesinger, K., Schultz, R., Chladek, D., & Morrison, R. (1992). SIRS virus infection in nursery/grower pigs. *Newsletter of American Association of Swine Practitioners*, 4, 38-39.
- Kennedy, S., Moffett, D., McNeilly, E., Meehan, B., Ellis, J. Krakowka, S., & Allan, G. M. (2000). Reproduction of lesions of postweaning multisystemic wasting syndrome by experimental infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*, 122, 9-24.
- Kim, H., Kim, H. K., Jung, J. H., Choi, Y. J., Kim, J., Um, C. G., Hyun, S. B., Shin, S., Lee, B., & Jang, G. (2011). The assessment of efficacy of porcine reproductive respiratory syndrome virus inactivated vaccine based on the viral quantity and inactivation methods. *Virology Journal*, 8, 323.
- Kittawornrat, A., Prickett, J., Chittick, W., Wang, C., Engle, M., Johnson, J., Patnayak, D., Schwartz, T., Whitney, D., Olsen, C., Schwartz, K., & Zimmerman, J. J. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in serum and oral fluid samples from individual boars: will oral fluid replace serum for PRRSV surveillance? *Virus Research*, 154, 170–176.
- Kraft, C., Hennies, R., Dreckmann, K., Noguera, M., Rathkjen, P. H., Gassel, M., & Gereke, M. (2019). Evaluation of PRRSV specific, maternally derived and induced immune response in Ingelvac PRRSFLEX EU vaccinated piglets in the presence of maternally transferred immunity. *PLoS One*, 14(10), e0223060.
- Kranker, S., Nielsen, J., Bille-Hansen, V., & Bøtner, A. (1998). Experimental inoculation of swine at various stages of gestation with a Danish isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Veterinary Microbiology*, 61, 21–31.
- Kristensen, S. C., Christiansen, M. G., Pedersen, K., & Larsen, L. E. (2020). Production losses five months after outbreak with a recombinant of two PRRSV vaccine strains in 13 Danish sow herds. *Porcine Health Management*, 6, 26.
- Kritas, S. K., Alexopoulos, C., Saoulidis, K., & Kyriakis, S. C. (2000). Vaccinating against PRRS virus. Large-scale trials in Greece demonstrate effective protection. *Pig International*, 30, 18-20.

- Kyriakis, S. C., Alexopoulos, C., Paschaleri-Papadopoulou, E., Tsinas, A. C., Kritas, S. K., & Giannakopoulos, C. (1996). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS): present status of the disease and the Greek experience. *Abstract Book of the Bilateral Veterinary Medical School Meeting, Belgrade-Thessaloniki, Kopaonic*, 65-68.
- Labarque, G., Van Gucht, S., Van Reeth, K., Nauwynck, H., & Pensaert, M. (2003). Respiratory tract protection upon challenge of pigs vaccinated with attenuated porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines. *Veterinary Microbiology*, *95*, 187-197.
- Lager, K. M., & Mengeling, W. L. (1995). Pathogenesis of in utero infection, in porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *59*, 187-192.
- Lager, K. M., & Halbur, P. G. (1996). Gross and microscopic lesions in porcine fetuses infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *8*, 275-282.
- Lager, K. M., Mengeling, W. L., & Brockmeier, S. L. (1997a). Duration of homologous porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Veterinary Microbiology*, *58*, 127-133.
- Lager, K. M., Mengeling, W. L., & Brockmeier, S. L. (1997b). Homologous challenge of porcine reproductive and respiratory syndrome virus immunity in pregnant swine. *Veterinary Microbiology*, *58*, 113-125.
- Lager, K. M., Mengeling, W. L., Wesley, R. D., Halbur, P. G., & Sorden, S. D. (1998). Acute PRRS. *Proceedings of 29th Annual Meeting of American Association of Swine Practitioners, Des Moines, IA*, 449-453.
- Le Potier, M. F., Blanquefort, P., Morvan, E., & Albina, E. (1997). Results of a control programme for the porcine reproductive and respiratory syndrome in the French "Pays de la Loire" region. *Veterinary Microbiology*, *55*, 355-360.
- Li, Z., He, Y., Xu, X., Leng, X., Li, S., Wen, Y., Wang, F., Xia, M., Cheng, S., & Wu, H. (2016). Pathological and immunological characteristics of piglets infected experimentally with a HP-PRRSV TJ strain. *BMC veterinary research*, *12*(1), 230.

- Lindhaus, W., & Lindhaus, B. (1991). Tatselhafte Schweinekrankheit. *Praktische Tierarztl*, 25, 423-425.
- Lopez-Fuertes, L., Campos, E., & Domenech, N. (2000). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus down-modulates TNF-alpha production in infected macrophages. *Virus Research*, 69, 41-46.
- Lopez, O. J., & Osorio, F. A. (2004). Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102(3), 155- 163.
- Loula, T. (1991). Mystery pig disease. *Agri-Practice*, 12, 23-34.
- Lunney, J. K., Fang, Y., Ladinig, A., Chen, N., Li, Y., & Rowland, B. (2016). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System. *Annual Review of Animal Biosciences*, 4(1), 129-154.
- Madapong, A., Temeeyasen, G., Saeng-Chuto, K., Tripipat, T., Navasakuljinda, W., Boonsoongnern, A., Tantituvanont, A., & Nilubol, D. (2017). Humoral immune responses and viral shedding following vaccination with modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines. *Archives of Virology*, 162(1), 139-146.
- Magar, R., Larochelle, R., Robinson, Y., & Dubuc, C. (1993). Immunohistochemical detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using colloidal gold. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 57, 300-304.
- Maragkakis, G., Korou, L. M., Chaintoutis, S. C., Christodoulopoulos, G., Dovas, C. I., Perrea, D., Athanasiou, L. V., Konstantopoulos, P., Maes, D., & Papatsiros, V. G. (2022). Investigation of Fas (APO-1)-Related Apoptosis in Piglets Intradermally or Intramuscularly Vaccinated with a Commercial PRRSV MLV. *Viral immunology*, 35(2), 129-137.
- Martin-Valls, G. E., Kvisgaard, L. K., Tello, M., Darwich, L., Cortey, M., Burgara-Estrella, A. J., Hernandez, J., Larsen, L. E., & Mateu, E. (2014). Analysis of ORF5 and full-length genome sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates of genotypes 1 and 2 retrieved worldwide provides evidence that recombination is a common phenomenon and may produce mosaic isolates. *Journal Virology*, 88, 3170- 3181.



- Mateusen, B., Van Soom, A., Maes, D. G. D., Favoreel, H., & Nauwynck, H. J. (2007). Receptor-determined susceptibility of preimplantation embryos to pseudorabies virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Biology of Reproduction*, 76(3), 415-423.
- Mengeling, W. L., Lager, K. M., Vorwald, A. C., & Brockmeier, S. L. (1996a). Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *American Journal of Veterinary Research*, 57, 834-839.
- Mengeling, W. L., Vorwald, A. C., Lager, K. M., & Brockmeier, S. L. (1996b). Diagnosis of porcine reproductive and respiratory syndrome using infected alveolar macrophages collected from live pigs. *Veterinary Microbiology*, 49, 105-115.
- Mengeling, W. L., Lager, K. M., & Vorwald, A. C. (1996c). An overview on vaccination for porcine reproductive and respiratory syndrome. *Proceedings of the 23rd Allen D. Leman Swine Conference*, 139-142.
- Mengeling, W. L., Lager, K. M., Vorwald, A. C., Wesley, R. D., & Clouser, D. F. (1997). An update of research at the National Animal Disease Center on current strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference*, 24, 138-145.
- Mengeling, W. L., Lager, K. M., & Vorwald, A. C. (2000). The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 199-210.
- Merlot, E., Mounier, A. M., & Prunier, A. (2011). Endocrine response of gilts to various common stressors: A comparison of indicators and methods of analysis. *Physiology & Behavior*, 102, 259- 265.
- Meulenberg, J. J. M., Petersen-Den Besten, A., De Kluyver, E. P., Moorman, R. J. M., Schaaper, W. M. M., & Wensvoort, G. (1995). Characterization of proteins encoded by ORFs 2 to 7 of Lelystad virus. *Virology*, 206, 155-163.
- Mondaca-Fernández, E., Meyns, T., Muñoz-Zanzi, C., Trincado, C., & Morrison, R. B. (2007). Experimental quantification of the transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 71, 157-160.

- Montaner-Tarbes, S., del Portillo, H., & Montoya, M., & Fraile, L. (2020). Key Gaps in the Knowledge of the Porcine Respiratory Reproductive Syndrome Virus (PRRSV). *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 38.
- Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2021). *Introduction to linear regression analysis*. John Wiley & Sons.
- Moura, C. A. A., Johnson, C., Baker, S. R., Holtkamp, D. J., Wang, C., & Linhares, D. C. L. (2019). Assessment of immediate production impact following attenuated PRRS type 2 virus vaccination in swine breeding herds. *Porcine Health Management*, 5, 13.
- Murtaugh, M. P., Elam, M. R., & Kakach, L. T. (1995). Comparison of the structural protein coding sequences of the VR-2332 and Lelystad virus strains of the PRRS virus. *Archives of Virology*, 140(8), 1451-1460.
- Murtaugh, P. M. (2004). PRRS immunology: what are we missing? *Proceedings of the 35th Annual Meeting of American Association of Swine Veterinarians*, Des Moines Marriott, Iowa, 359-367.
- Murtaugh, M. P., & Genzow, M. (2011). Immunological solutions for treatment and prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). *Vaccine*, 29(46), 8192–8204.
- Nan, Y., Wu, C., Gu, G., Sun, W., Zhang, Y. J., & Zhou, E. M. (2017). Improved Vaccine against PRRSV: Current Progress and Future Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1635. doi: 10.3389/fmicb.2017.01635.
- Nathues, C., Perler, L., Bruhn, S., Suter, D., Eichhorn, L., Hofmann, M., Nathues, H., Baechlein, C., Ritzmann, M., Palzer, A., Grossmann, K., Schüpbach-Regula, G., & Thür, B. (2014). An outbreak of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Switzerland following import of boar semen. *Transboundary Emergency Diseases*, 63, e251–e261.
- Nathues, H., Alarcon, P., Rushton, J., Jolie, R., Fiebig, K., Jimenez, M., Geurts, V., & Nathues, C. (2017). Cost of porcine reproductive and respiratory syndrome virus at individual farm level—An economic disease model. *Preventive Veterinary Medicine*, 142, 16–29.

- Navarro, P., Christenson, R. K., Weber, P., Rothschild, M., Ekhard, G., & Butler, J. E. (2001). IgA allotypes are not equally transcribed or expressed in heterozygous swine. *Molecular Immunology*, *37*, 653.
- Neumann, E. J., Kliebenstein, J. B., Johnson, C. D., Mabry, J. W., Bush, E., Seitzinger, A. H., Green, A., & Zimmerman, J. J. (2005). 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*, *227*, 385-392.
- Nielsen, J., & Bøtner, A. (1997). Hematological and immunological parameters of 41/2-month old pigs infected with PRRS virus. *Veterinary Microbiology*, *55*, 289-294.
- Nielsen, T. L., Nielsen, J., Have, P., Bækbo, P., Hoff-Jørgensen, R., & Botner, A. (2001). Reversion of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine investigated by parallel mutations. *Journal of General Virology*, *82*, 1263-1272.
- Nielsen, J., Botner, A., Bille-Hansen, V., Oleksiewicz, M. B., & Storgaard, T. (2002). Experimental inoculation of late term pregnant sows with a field isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccine-derived virus. *Veterinary Microbiology*, *84*, 1-13.
- Niewiesk, S. (2014). Maternal antibodies: clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies. *Frontiers in Immunology*, *5*, 446.
- Nilubol, D., Platt, K. B., Halbur, P. G., Torremorell, M., & Harris, D. L. (2004). The effect of a killed porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine treatment on virus shedding in previously PRRSV infected pigs. *Veterinary Microbiology*, *102*, 11-18.
- Oh, T., Kim, H., Park, K. H., Jeong, J., Yang, S., Kang, I., Park, S. J., & Chae, C. (2019). A comparative study of the efficacy of a porcine reproductive and respiratory syndrome subunit and a modified- live virus vaccine against respiratory diseases in endemic farms. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *83*(2), 110- 121.
- Ohlinger, V., Weiland, F., Weiland, E., Mettenleiter, T., Haas, B., Visser, N., & Ahl, R. (1992). Some aspects of the virus causing PRRS in Germany. *Newsletter of the American Association of Swine Practitioners*, *4*, 16.

- OIE (Office International des Épizooties). (1992). World Animal Health 1991. Volume VII. Number 2. Animal Health Status and Disease Control Methods (Part One: Reports), 126.
- Otake, S., Dee, S. A., Rossow, K. D., Joo, H. S., Deen, J., & Molitor, T. W. (2001). Transmission of PRRSV by mechanical vectors and the impact of biosecurity protocols. *Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians*, Nashville, Tennessee, 499-501.
- Papatsiros, V. G., Alexopoulos, C., Kritas, S. K., Koptopoulos, G., Nauwynck, H. J., Pensaert, M. B., & Kyriakis, S. C. (2006). Long-term administration of a commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-inactivated vaccine in PRRSV-endemically infected sows. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 53, 266-272.
- Papatsiros, V. G. (2012a). Porcine Herd Health Management Practices for the Control of PRRSV Infection. *In A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*, Perez-Marin, C. C. Croatia.
- Papatsiros, V. G. (2012b). Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus vaccinology: a review for commercial vaccines. *American Journal of Animal Veterinary Sciences*, 7(4), 149-158.
- Papatsiros, V.G., Stylianaki, I., Papakonstantinou, G., Tsekouras, N., Bitchava, D., Christodouloupoulos, G., & Papaioannou, N. (2020). Histopathological Lesions Accompanied with First-Time Isolation of a PRRSV-2 Strain in Greece. *Viral Immunology*, 33(8), 1-6.
- Papatsiros, V.G., Papakonstantinou, G., Meletis, E., Tsekouras, N., Maragkakis, G., Bitchava, D., Kostoulas, P. (2022). Occurrence and Associated Risk Factors of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus and Porcine Circovirus Type 2 Infections in Greece. *Viral Immunology*, 35(3), 200-211.
- Pastoret, P., Griebel, P., Bazin, H., & Govaerts, A. (1998). *Handbook of Vertebrate Immunology*. Academic Press of San Diego.
- Pedersen, K., Kristensen, C. S., Kvisgaard, L. K., & Larsen, L. E. (2021). Impacts of Quarterly Sow Mass Vaccination with a Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Type 1 (PRRSV- 1) Modified Live Vaccine in Two Herds. *Vaccines*, 9, 1057.

- Pejsak, Z., & Markowska, D. I. (1996). Viruses as a reason for reproductive failure in pig herds in Poland. *Reproduction in Domestic Animal*, 31, 445-447.
- Peltoniemi, O., Björkman, S., & Maes, D. (2016). Reproduction of group-housed sows. *Porcine Health Management*, 2, 15.
- Pentšuk, N., Van der Laan, J. M. (2019). An interspecies comparison of placental antibody transfer: New insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. *Birth Defects Research*, 86(4), 328- 344.
- Pesch, S. (2003). Etablierung einer Nachweismethode für die zwei Genotypen von dem Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) und ein Beitrag zu seiner molekularen Epidemiologie. Thesis, Institute of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig.
- Pesente, P., Rebonato, V., Sandri, G., Giovanardi, D., Lu Ruffoni, L.S., & Torriani, S. (2006). Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRS-positive Italian farms: A showcase for PRRSV epidemiology and its consequences on farm management. *Veterinary Microbiology*, 114, 214–224.
- Pileri, E., & Mateu, E. (2016). Review on the transmission porcine reproductive and respiratory syndrome virus between pigs and farms and impact on vaccination. *Veterinary Research*, 47, 108.
- Piriou-Guzylack, L., & Salmon, H. (2008). Membrane markers of the immune cells in swine: an update. *Veterinary Research*, 39, 54.
- Plana-Durán, J., Bastons, M., Urniza, A., Vayreda, M., Vila, X., & Mane, H. (1997). Efficacy of an inactivated vaccine for prevention of reproductive and respiratory failure induced by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Microbiology*, 55, 361-370.
- Plana-Durán, J., Mourino, M., Viaplana, E., Balasch, M., Casal, I., Rodriguez, M. J., Enjuanes, L., Izeta, A., Alonso, S., & Sola, I. (1999). New strategies in the development of PRRS vaccines. Subunit vaccines and self-limiting vectors based on defective coronaviruses. *Proceedings of the PRRS and Aujeszky's disease PRRS*, Ploufragan, France, 247-248.

- Prieto, C., Sanchez, R., Martin-Rillo, S., Suarez, P., Simarro, I., Solana, A., & Castro, J. M. (1996a). Exposure of gilts in early gestation to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Record*, *138*(22), 536-539.
- Prieto, C., Suarez, P., Bautista, J. M., Sanchez, R., Rillo, S. M., Simarro, I., Solana, A., & Castro, J. M. (1996b). Semen changes in boars after experimental infection with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Theriogenology*, *45*, 383-395.
- Prieto, C., Garcia, C., Simarro, I., & Castro, J. M. (2003). Temporal localization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in reproductive tissues of experimentally infected boars. *Theriogenology*, *60*, 1504-1514.
- Prieto, C., & Castro, J. M. (2005). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. *Theriogenology*, *63*(1), 1-16.
- Rajkhowa, T. (2020). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Emerging and Transboundary Animal Viruses*, pp, 285-313.
- Razdan, P. (2003). Stress and Early Pregnancy in Sows: Effects on endocrinology, ova transport and embryo development. *Doctoral thesis*. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Renke, C., Nathues, C., Swam, H., Fiebig, K., Weiss, C., Eddicks, M., Ritzmann, M., & Nathues, H. (2021). Application of an economic calculator to determine the cost of porcine reproductive and respiratory syndrome at farm-level in 21 pig herds in Germany. *Porcine Health Management*, *7*(3)
- Renson, P., Fablet, C., Andraud, M., Normand, V., Lebret, A., & Paboeuf, F. (2019). Maternally-derived neutralizing antibodies reduce vaccine efficacy against porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vaccine*, *37*(31), 4318–24.
- Renukaradhya, G. J., Aleksejev, K., Jung, K., Fang, Y., & Saif, L. J. (2010). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced immunosuppression exacerbates the inflammatory response to porcine respiratory coronavirus. *Viral Immunology*, *23*, 457–66.
- Rossow, K. D., Benfield, D. A., Goyal, S. M., Nelson, E. A., Christopher-Hennings, J., & Collins, J. E. (1996a). Chronological immunohistochemical detection and localization of porcine

- reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Veterinary Pathology*, 33, 551-556.
- Rossow, K. D. (1998). Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Veterinary Pathology*, 35, 1-20.
- Rowland, R. R., Robinson, B., Stefanick, J., Kim, T. S., Guanghua, L., Lawson, S. R., & Benfield, D. A. (2001). Inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by interferon-g and recovery of virus replication with 2-aminopurine. *Archives of Virology*, 146, 539-555.
- Rowland, R. R. (2010). The interaction between PRRSV and the late gestation pig fetus. *Virus Research*, 154, 114-222
- Scotti, M., Prieto, C., Alvarez, E., Simarro, I., & Castro, J. M. (2007). Failure of an inactivated vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome to protect gilts against a heterologous challenge with PRRSV. *Veterinary Research*, 161(24), 809-814
- Scotti, M., Prieto, C., Martinez-Lobo, F. J., Simarro, I., & Castro, J. M. (2006). Effects of two commercial European modifiedlive vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in pregnant gilts. *The Veterinary Journal*, 172, 506–514.
- Segalés, J., Kekarainen, T., & Cortey, M. (2013). The natural history of porcine circovirus type 2: from an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Veterinary Microbiology*, 165, 13–20.
- Senthilkumar, D., Rajukumar, K., Kumar, M., Kalaiyarasu, S., Shrivastava, D., Katare, M., Kulkarni, D. D., & Singh, V. P. (2019). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus induces concurrent elevation of High Mobility Group Box-1 protein and pro-inflammatory cytokines in experimentally infected piglets. *Cytokine*, 113, 21–30.
- Seuberlich, T., Tratschin, J. D., Thur, B., & Hofmann, M. A. (2002). Nucleocapsid Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection and Differentiation of Antibodies against European and North American Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9, 1183–1191.

- Shi, M., Lam, T. T. Y., Hon, C. C., Hui, R. H. H., Faaberg, K. S., Wennblom, T., Murtaugh, M. P., Stadejek, T., & Leung, F. C. C. (2010). Molecular epidemiology of PRRSV: A phylogenetic perspective. *Virus Research*, *154*(1-2), 7- 17.
- Singla, A. K., Chawla, M., & Singh, A. (2000). Potential applications of carbomer in oral mucoadhesive controlled drug delivery system: a review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *26*, 913–924.
- Snijder, E. J., Wassenaar, A. L., Spaan, W. J., & Gorbalenya, A. E. (1995). The arterivirus nsp2 protease. An unusual cysteine protease with primary structure similarities to both papain-like and chymotrypsin-like proteases. *Journal Biological Chemistry*, *270*, 16671–16676.
- Snijder, E. J., & Meulenber, J. J. (1998). The molecular biology of arteriviruses. *Journal of General Virology*, *79*, 961–979.
- Snijder, E. J., van Tol, H., Pedersen, K. W., Raamsman, M. J. B., & de Vries, A. A. F. (1999). Identification of a novel structural protein of arteriviruses. *Journal of Virology*, *73*, 6335-6345.
- Snijder, E. J., Kikkert, M., & Fang, Y. (2013). Arterivirus molecular biology and pathogenesis. *Journal of General Virology*, *94*, 2141-2163.
- Sorensen, K. J., Botner, A., Smedegaard Madsen, E., Strandbygaard, B., & Nielsen, J. (1997). Evaluation of a blocking Elisa for screening of antibodies against porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Veterinary Microbiology*, *56*, 1-8.
- Stadejek, T., Stankevicius, A., Storgaard, T., Oleksiewicz, M. B., Belak, S., Drew, T. W., & Pejsak, Z. (2002). Identification of radically different variants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Eastern Europe: towards a common ancestor for European and American viruses. *Journal of General Virology*, *83*, 1861-1873.
- Stadejek, T., Oleksiewicz, M. B., Potapchuk, D., & Podgorska, K. (2006). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus strains of exceptional diversity in Eastern Europe support the definition of new genetic subtypes. *Journal of General Virology*, *87*, 1835–1841.
- Stadejek, T., Oleksiewicz, M. B., Scherbakov, A. V., Timina, A. M., Krabbe, J. S., Chabros, K., & Potapchuk, D. (2008). Definition of subtypes in the European genotype of porcine



- reproductive and respiratory syndrome virus: nucleocapsid characteristics and geographical distribution in Europe. *Archives of Virology*, 153, 1479- 1488.
- Stadejek, T., Stankevicius, A., Murtaugh, M. P., & Oleksiewicz, M. B. (2013). Molecular evolution of PRRSV in Europe: Current state of play. *Veterinary Microbiology*, 165, 21- 28.
- Stadler, J., Zoels, S., Eddicks, M., Kraft, C., Ritzmann, M., & Ladinig, A. (2016). Assessment of safety and reproductive performance after vaccination with a modified live-virus PRRS genotype 1 vaccine in pregnant sows at various stages of gestation. *Vaccine*, 34(33), 3862-3866.
- Sung, H. M., Sung, J. Y., Sang, H. N., Taeyong, K., Dong, U. L., Sang, H. J., Myung, H. K., Sang, W. S., & Young, S. L. (2018). Acute porcine reproductive and respiratory syndrome outbreaks in immunized sow herds: from occurrence to stabilization under whole herd vaccination strategy. *Korean Journal of Veterinary Research*, 58(2), 73-79.
- Sur, J. H., Doster, A. R., Christian, J. S., Galeota, J. A., Wills, R. W., Zimmerman, J. J., & Osorio, F. A. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus replicates in testicular germ cells, alters spermatogenesis, and induces germ cell death by apoptosis. *Journal of Virology*, 71, 9170-9179.
- Swenson, S. L., Hill, H. T., Zimmerman, J., Evans, L. E., Landgraf, J. G., Wills, R., McGinley, M., Brevik, A., Ciszewski, D., & Frey, M. L. (1994a). PEARS virus in experimentally infected boars. *Proceedings of the 13th International Pig Veterinary Society Congress*, Bangkok, Thailand, 13, 58.
- Swenson, S. I., Hill, H. T., Zimmerman, J. J., Evans, L. E., Landgraf, J. G., Wills, R. W., Sanderson, T. P., McGinley, M. J., Brevik, A. K, Ciszewski, D. K, & Frey, M. L. (1994b). Excretion of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in semen after experimentally induced infection in boars. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 204, 1943-1948.
- Thacker, E. L., Thacker, B. J., Young, T. F., & Halbur, P. G. (2000). Effect of vaccination on the potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-induced pneumonia by *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vaccine*, 18, 1244-1252.

- Thanawongnuwech, R., Brown, G. B., & Halbur, P. G. (2000). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-induced increase in susceptibility in *Streptococcus suis* infection. *Veterinary Pathology*, *37*, 143-152.
- Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A., & Damrongwatanapokin, S. (2004). Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand. *Veterinary Microbiology*, *101*, 9- 21.
- Thanawongnuwech, R., & Suradhat, S. (2010). Taming PRRSV: Revisiting the control strategies and vaccine design. *Virus Research*, *154*, 133- 140.
- Tizard, I. R. (1995). Interferons. *Cytokines in Animal Health and Disease*. Myers, M. J., & Murtaugh, M. P. (eds.). New York, pp, 1-58.
- Tizard, I. R. (2004). The Use of Vaccines. *Veterinary Immunology. An Introduction (7<sup>th</sup> ed.)*, 265.
- Tizard, I. R. (2016). Immunity to Viruses. *Veterinary Immunology (10<sup>th</sup> ed.)*, 297- 309.
- Toman, M., Celer, V., Kavanova, L., Leva, L., Frolichova, J., Odrackova, P., Kudlackova, P., Nechatalova, K., Salat, J., & Faldyna, M. (2019). Dynamics and Differences in Systemic and Local Immune Responses After Vaccination With Inactivated and Live Commercial Vaccines and Subsequent Subclinical Infection With PRRS Virus. *Frontiers Immunology*, *10*, 1689.
- Trincado, C., Dee, S. A., Jacobson, L., Otake, S., Rossow, K. D., & Pijoan, C. (2004). Attempts to transmit porcine reproductive and respiratory syndrome virus by aerosols under controlled field conditions. *Veterinary Record*, *154*, 294–297.
- Valíček, L., Pšikal, I., & Šmid, B. (1997). Isolation and identification of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome virus in cell culture. *Veterinary Medicine (Praha)*, *42*, 281-287.
- Valtulini, S., Macchi, C., Ballanti, P., Cherel, Y., Lavalc, A., Theaker, J. M., Bake, M., Ferretti, E., & Morvan, H. (2005). Aluminium hydroxide-induced granulomas in pigs. *Vaccine*, *23*, 3999–4004.
- Van Gorp, H., Van Breedam, W., Delputte, P. L., & Nauwynck, H. J. (2008). Sialoadhesin and CD163 join forces during entry of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of General Virology*, *89*, 2943–2953.

- Van Reeth, K., Labarque, G., Nauwynck, H., & Pensaert, M. (1999). Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Research in Veterinary Science*, *67*, 47-52.
- Vanhee, M., Delputte, P. L., Delrue, I., Geldhof, M. F., & Nauwynck, H. J. (2009). Development of an experimental inactivated PRRSV vaccine that induces virus-neutralizing antibodies. *Veterinary Research*, *40*(6), 63.
- Vicek, J., & Sen, G. (1996). Interferons and other cytokines. *Fields' Virology*, (3<sup>rd</sup> eds.). Fields, B., Knipe, D., & Howley, P. Philadelphia, *13*, 375-400.
- Vilaca, K. J., Dewey, C., Pettitt, M., & Friendship, R. (2001). The effects of a PRRS vaccine on the semen quality of boars. *Proceedings of the 32th American Association of Swine Veterinarians Meeting*, Nashville, Tennessee, *32*, 59-61.
- Vilaca, K. J., Dewey, C., Friendship, R., Plante, C., & Buhr, M. M. (2003). Semen quality parameters in naïve boars vaccinated with a MLV porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine. *Proceedings of the 34th American Association of Swine Veterinarians Meeting*, Orlando, Florida, *32*, 25-26.
- Vlahos, R., & Bozinovski, S. (2014). Role of alveolar macrophages in chronic obstructive pulmonary disease. *Frontiers in Immunology*, *5*, 435. doi: 10.3389.
- Wang, L., Hu, S., Iiu, Q., Li, Y., Xu, L., Zhang, Z., Cai, X., & He, X. (2017). Porcine alveolar macrophage polarization is involved in inhibition of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) replication. *The Journal Of Veterinary Medical Science*, *79*(11), 1906-1915.
- Wensvoort, G., Terpstra, C., Pol, J. M., Ter Laak, E. A., Bloemraad, M., De Kluyver, E. P., Kragten, C., Van Buiten, L., Den Besten, A., & Wagenaar, F. (1991). Mystery swine disease in The Netherlands: the isolation of Lelystad virus. *Veterinary Quarterly*, *13*, 121-130.
- Wensvoort, G. (1993). Lelystad virus and the porcine epidemic abortion and respiratory syndrome. *Veterinary Research*, *24*, 117-124.
- White, M. E. C. (1992a). The clinical signs and symptoms of blue-eared pig disease (PRRS). *Pig Veterinary Journal*, *28*, 62-68.

- White, M. E. C. (1992b). PRRS: Clinical update. *Pig Veterinary Journal*, 29, 179-187.
- Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4.
- Wills, R., Zimmerman, J., Yoon, K.J., Swenson, S., McGinley, M., Hill, H., Platt, K., ChristopherHennings, J., & Nelson, E. (1995). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: A persistent infection. *Proceedings of 2nd International Symposium on Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome*, Copenhagen, Denmark, 19.
- Wills, R. W., Zimmerman, J. J., Yoon, K. J., Swenson, S. L., Hoffman, L. J., McGinley, M. J., Hill, H. T., & Platt, K. B. (1997a). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Routes of excretion. *Veterinary Microbiology*, 57, 69-81.
- Wills, R. W., Zimmerman, J. J., Yoon, K. J., Swenson, S. L., McGinley, M. J., Hill, H. T., Platt, K. B., Christopher-Hennings, J., & Nelson, E. A. (1997b). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: A persistent infection. *Veterinary Microbiology*, 55, 231-240.
- Wills, R. W., Gray, J. T., & Fedorka-Cray, P. J. (2000). Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Salmonella choleraesuis* in swine. *Veterinary Microbiology*, 71, 177-192.
- Wissink, E. H., Kroese, M. V., van Wijk, H. A., Rijsewijk, F. A., Meulenberg, J. J., & Rottier, P. J. (2005). Envelope protein requirements for the assembly of infectious virions of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Virology*, 79, 12495- 12506.
- Wootton, S., Yoo, D., & Rogan, D. (2000). Full-length sequence of a Canadian porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolate. *Archives of Virology*, 145, 2297-2323.
- Xiao, S., Jia, J., Mo, D., Wang, Q., Qin, L., He, Z., Zhao, X., Huang, Y., Li, A., Yu, J., Niu, Y., Liu, X., & Chen, Y. (2010). Understanding PRRSV infection in porcine lung based on genome-wide transcriptome response identified by deep sequencing. *PloS one*, 5(6), e11377.
- Xilouri-Frangiadaki, E. (1993). First serological diagnosis of the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome in Greece. *Journal of Hellenic Veterinary Association*, 44(1), 59-60.
- Yoon, I. J., Joo, H. S., Christianson, W. T., Kim, H. S., Collins, J. E., Morrison, R. B., & Dial, G. D. (1992). An indirect fluorescent antibody test for the detection of antibody to swine infertility

- and respiratory syndrome virus in swine sera. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 4, 144-147.
- Yoon, K. J., Zimmerman, J. J., Swenson, S. L., McGinley, M. J., Eernisse, K. A., Brevik, A., Rhinehart, L. L., Frey, M. L., Hill, H. T., & Platt, K. B. (1995). Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7, 305-312.
- Zimmerman, J., Yoon, K. J., Pirtle, E. C., Wills, R. W., Sanderson, T. J., & McGinley, M. J. (1997). Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Veterinary Microbiology*, 55, 329-336.
- Zimmerman, J. J., Benfield, D. A., Murtaugh, M. P., Osorio, F., Stevenson, G. W., & Torremorell, M. (2006). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). *Diseases of Swine (8th ed)*. Straw, B. E., Zimmerman, J. J., D'Allaire, S., & Taylor, D. J. (eds). Wiley, pp. 387-417.
- Zimmerman, J., Benfield, D. A., Scott, A. D., Murtaugh, M. P., Stadejek, T., Stevenson, G. W., & Torremorell, M. (2012). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arterivirus). *Diseases of Swine (10<sup>th</sup> ed.)*. Zimmerman, J., Karriker, L., Ramirez, A., Schwartz, K., & Stevenson, G. (eds.). Wiley-Blackwell, pp. 461-486.
- Zimmerman, J., Scott, A.D., Holtkamp, D. J., Murtaugh, M. P., Stadejek, T., Stevenson, G. W., & Torremorell, M. (2019). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (Porcine Arteriviruses). *Diseases of Swine (11<sup>th</sup> ed.)*. Zimmerman, J., Karriker, L., Ramirez, A., Schwartz, K., Stevenson, G., & Zhang, J (eds.). John Wiley & Sons, Inc., pp. 685-708.
- Zhou, E. M., Zimmerman, J. J., Zhou, K. X., Jiang, Z., & Platt, K. B. (2002). IgM-capture ELISA as a serodiagnostic test for detection of primary infection of PRRSV in pigs. *Proceedings of the 31<sup>th</sup>, American Association of Swine Veterinarians*, Indianapolis, Indiana, 295-298.
- Zhou, Y. J., Hao, X. F., Tian, Z. J., Tong, G. Z., Yoo, D., An, T. Q., Zhou, T., Li, G. X., Qiu, H. J., Wei, T. C., & Yuan, X. F. (2008). Highly Virulent Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Emerged in China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 55(3-4), 152-164.

Zhou, L., Ge, X., & Yang, H. (2021). Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Modified Live Virus Vaccine: A “Leaky” Vaccine with Debatable Efficacy and Safety. *Vaccines*, 9, 362.

# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

## ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

### ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ - ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

**Διερεύνηση των επιπτώσεων του εμβολιασμού των εγκύων συών κατά του αναπνευστικού και αναπαραγωγικού συνδρόμου των χοίρων (ΑΑΣΧ) στο αναπνευστικό σύστημα νεογέννητων χοιριδίων**

του κτηνιάτρου Γεώργιου Ι. Παπακωνσταντίνου

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η παρούσα πειραματική μελέτη αναφέρεται στη χορήγηση όλων των εμπορικά διαθέσιμων, στην Ελλάδα, ΕΛΔ εμβολίων κατά του ιού του PRRS σε νεαρές σύες αντικατάστασης στο τέλος της κυοφορίας τους. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση, υπό συνθήκες εκτροφής, των επιπτώσεων του εμβολιασμού των εγκύων συών κατά του PRRSv με ΕΛΔ εμβόλια στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας, με έμφαση στις επιπτώσεις στο αναπνευστικό σύστημα των νεογέννητων χοιριδίων τόσο σε κλινικό όσο και σε επίπεδο ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή περιλαμβάνει δύο κύρια μέρη:

α) τη βιβλιογραφική ανασκόπηση του PRRS (αιτιοπαθογένεια, επιζωοτιολογία, κλινική εικόνα, παθολογοανατομικές αλλοιώσεις, διάγνωση και πρόληψη). Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στα μέχρι σήμερα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν στα αποτελέσματα ερευνών από τη χρήση εμβολίων κατά του PRRS.

β) αναλυτική παρουσίαση του πειραματικού σχεδιασμού, των αποτελεσμάτων της έρευνας και της συζήτησής τους.

Ο πειραματισμός πραγματοποιήθηκε σε τέσσερις διαφορετικές χοιροτροφικές εκμεταλλεύσεις βιομηχανικού τύπου, με δυναμικότητα από 400 έως 600 σύες. Η προ-πειραματική περίοδος, κατά τη διάρκεια της οποίας πραγματοποιήθηκε έλεγχος για τυχόν κυκλοφορία του PRRSv ή για ενδεχόμενη παρουσία μυκοτοξινών στις ζωοτροφές, είχε συνολική διάρκεια τεσσάρων μηνών. Ειδικότερα, διήρκεσε ένα μήνα σε κάθε μία από τις τέσσερις εκτροφές. Η περίοδος του πειραματισμού διήρκεσε 13 μήνες, από τον Φεβρουάριο του 2019 με τον εμβολιασμό των κυοφορούντων συών της εκτροφής 1 που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη έως και το Μάρτιο του 2020 με τις τελευταίες αιμοληψίες από τις τοκετοομάδες των συών της εκτροφής 4. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν 25 νεαρές σύες αντικατάστασης από κάθε εκτροφή ( $25 \times 4 = 100$  νεαρές σύες αντικατάστασης), οι οποίες κατανεμήθηκαν τυχαία σε 5 ισοδύναμες ομάδες μελέτης (5 νεαρές σύες σε κάθε ομάδα). Ακολούθησε ο εμβολιασμός των συών του πειραματισμού, την 100<sup>η</sup> ημέρα της κυοφορίας τους, με τη χρήση όλων των διαφορετικών εμπορικών ΕΛΔ εμβολίων κατά του PRRSv που διατίθενται στην ελληνική αγορά: α) Porcillis PRRS (MSD Animal Health), β) UniStrain PRRS (Hipra), γ) ReproSys PRRS (Boehringer Ingelheim Vetmedica), δ) Suvaxyn PRRS (Zoetis).

Διενεργήθηκε εξέταση RT-PCR στις σύες προκειμένου να διαπιστωθεί η πιθανότητα πρόκλησης αιμίας από το εμβολιακό στέλεχος του ιού. Το σύνολο των τοκετοομάδων των συών της μελέτης εξετάστηκε, επίσης, με τη μέθοδο RT-PCR, ώστε να εντοπιστεί η ύπαρξη αιμίας. Ακόμη, διενεργήθηκε φυλογενετική ανάλυση σε εκείνα τα RT-PCR θετικά δείγματα, τα οποία συλλέχθηκαν από νεογέννητα χοιρίδια που δεν είχαν προλάβει να θηλάσουν (0-3 ώρες από τη γέννησή τους). Σκοπός της έρευνάς μας ήταν όχι μόνο η διερεύνηση της αιμίας στα RT-PCR θετικά χοιρίδια αλλά και της πρόκλησης αλλοιώσεων κατά την ενδομήτρια ζωή τους. Πραγματοποιήθηκαν ορολογικές εξετάσεις τόσο στις σύς όσο και στις τοκετοομάδες τους (με τη μέθοδο ELISA) προκειμένου να διερευνηθεί η παρουσία αντισωμάτων κατά του ιού. Επίσης, διενεργήθηκαν ιστοπαθολογικές και εξετάσεις με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε δείγματα πνευμονικού ιστού, ώστε να καταγραφούν πιθανές αλλοιώσεις που ο ιός προκάλεσε στο αναπνευστικό σύστημα των νεογέννητων χοιριδίων.



Επιπλέον, κριτήρια της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της χορήγησης των ΕΛΔ εμβολίων στις έγκυες σύς, στο τέλος της κυοφορίας τους, αποτέλεσαν: α) η καταγραφή τοπικής αντίδρασης (ερυθρότητα, οίδημα, θερμότητα και πόνος κατά την ψηλάφηση στο σημείο έγχυσης του εμβολίου) και γενικότερων διαταραχών της υγείας τους, β) η αξιολόγηση των αναπαραγωγικών παραμέτρων των σιών (διάρκεια τοκετού, επιστροφές σε οίστρο, αποβολές, αριθμός γεννηθέντων ζωντανών χοιριδίων/τοκετό, αριθμός γεννηθέντων νεκρών χοιριδίων/τοκετό, αριθμός μουμιοποιημένων χοιριδίων/τοκετό και αριθμός ελλιποβαρών χοιριδίων/τοκετό με Σ.Β.<1.000 gr), γ) η αξιολόγηση της κλινικής εικόνας των χοιριδίων των τοκετοομάδων των σιών (απαγωγή άκρων, διαταραχές αναπνευστικού και πεπτικού συστήματος).

Από τη συνολική εκτίμηση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι ο εμβολιασμός των νεαρών σιών αντικατάστασης με εμβόλιο ΕΛΔ κατά του PRRSV στο τέλος της κυοφορίας τους και συγκεκριμένα την 100<sup>η</sup> ημέρα αυτής, είχε τα ακόλουθα αποτελέσματα:

1. Ο εμβολιασμός των σιών με ΕΛΔ εμβόλια δεν προκάλεσε επιπτώσεις στην υγεία και τη συμπεριφορά τους. Συγκεκριμένα, δεν διαπιστώθηκαν αυξημένες αναπαραγωγικές διαταραχές στις σύς, καθώς μόλις το 2% των ζώων του πειραματισμού γέννησαν πρόωρα, ενώ καμία δεν απέβαλε. Τέλος, σε καμία σύ του πειραματισμού δεν εμφανίστηκε κάποια τοπική αντίδραση ή ανεπιθύμητη ενέργεια στο σημείο της έγχυσης.
2. Το εμβολιακό στέλεχος του του PRRSV μπορεί να διαπερνά τον χοίρειο πλακούντα και ακολούθως να μολύνει τα έμβρυα, προκαλώντας αλλοιώσεις αρχόμενης διάμεσης πνευμονίας στα χοιρίδια.
3. Στον όρο του αίματος των νεογέννητων χοιριδίων από εμβολιασμένες σύες είναι δυνατή η παρουσία ειδικών αντισωμάτων κατά του του PRRSV, ενδεχομένως, ως αποτέλεσμα *de novo* σύνθεσής τους. Η *de novo* σύνθεση των αντισωμάτων αυτών προέκυψε λόγω της διαφαινόμενης μόλυνσης των χοιριδίων από το εμβολιακό στέλεχος του ιού και της παρουσίας του στην εμβρυϊκή κυκλοφορία.
4. Η έκθεση των νεογέννητων χοιριδίων κατά την ενδομήτρια ζωή τους σε εμβολιακό στέλεχος του PRRSV επηρέασε αρνητικά το αναπνευστικό τους σύστημα, προκαλώντας αλλοιώσεις αρχόμενης διάμεσης πνευμονίας.

Συνεπώς, ο εμβολιασμός των συών, την τελευταία εβδομάδα της κυοφορίας, με ΕΛΔ εμβόλια αποτελεί παράγοντα αυξημένης επικινδυνότητας για τη μόλυνση των χοιριδίων κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής τους. Ως εκ τούτου, συνιστάται η αποφυγή του εμβολιασμού κατά του PRRSV με ΕΛΔ εμβόλια, στο τέλος της κυοφορίας.

**UNIVERSITY OF THESSALY**  
**SCHOOL OF HEALTH SCIENCES**

**FACULTY OF VETERINARY MEDICINE - CLINIC OF MEDICINE**

**Effects of Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome Virus (PRRSV)  
vaccination of pregnant gilts in the respiratory system of newborn piglets.**

by Georgios I. Papakonstantinou

**SUMMARY OF DOCTORAL THESIS**

The objective of this PhD Thesis was to investigate the undiserable effects caused by the administration of the four commercially available PRRSV-1 MLV vaccines in pregnant gilts at the last stage of gestation under field conditions. Particularly, the study focused on the investigation of the ability of MLV virus to act as a virulent strain (pathogenic), to be transmitted to fetuses and affect the health of sows and their newborn offspring.

The present study was conducted in four different farrow-to-finish commercial pig farms. The capacity of farms were approximately 400-600 sows under production (commercial hybrids of Large White x Landrace). The pre-trial period lasted one month on each of the four experimental farms (total duration of four months). During the pre- trial period, RT-PCR tests were carried out in order to investigate the circulation of wild-type PRRSV strains in the trial herds. In addition, the feed provided to experimental gilts was tested for mycotoxin contamination. The trial period lasted 13 months, starting in February 2019 with the PRRSV MLV vaccination of farm-1 experimental gilts and ended in March 2020 with the blood collection from the newborn piglets of farm-4 experimental gilts. The

study included 25 gilts from each farm ( $25 * 4 = 100$  gilts), which were randomly allocated to five different study groups (five gilts in each group). We used a pregnant sow model and exposed gilts to 100 days of their gestation to PRRSV MLV virus; using all four different commercially available in the Greek market, European- type attenuated vaccines: a) Porcillis PRRS (MSD Animal Health), b) UniStrain PRRS (Hipra), c) ReproSyc PRRS (Boehringer Ingelheim Vetmedica), d) Suvaxyn PRRS (Zoetis).

Primarily, the evaluation of the possible undesirable effects of the MLV vaccines in this model was based on the virus replication in gilts and their litters. Thus, RT-PCR tests were performed on study gilts and their offspring to investigate the ability of the vaccine virus to cause viremia in them. However, the aim of our study was both to investigate possible viremia in RT-PCR positive piglets and to record lesions occurred during their intrauterine life. Subsequently, a phylogenetic analysis was conducted on the RT-PCR positive newborn piglets that hadn't received any proportion of colostrum (0-3 hours after their birth). The presence of PRRSV antibodies in serum both gilts and their litters were also tested by ELISA assays. Furthermore, during the study histopathological examinations were carried out on lung samples collected from euthanized newborn piglets in order to determine if a possible PRRSV transplacental infection to fetuses could have caused any lesions in lung.

Other criteria used to assess the undesirable effects of MLV vaccines in our model were based on the reproductive performance of gilts and the health status of their offspring. So, local injection site reactions were investigated from the day of vaccination (100<sup>th</sup> day of gestation) until the parturition of gilts. The injection sites were examined for redness, swelling, heat and pain on palpation. In addition, reproduction performance variables were recorded from all experimental gilts such as litter characteristics (healthy live born piglets, weak born piglets with B.W. < 1000 gr, mummified and crushed piglets per litter), abortion rate, and percentage of sows returning to estrus. At birth, the newborn piglets of the study gilts were daily clinically examined, starting from the day when they were born until the day of their weaning. The clinical observation score included an assessment of behavior, digestion, and especially respiratory signs. Piglets with poor performance, dehydration, diarrhea, neurological signs, splay-leg, and respiratory symptoms were recorded.

On the basis of the total results obtained in the present study, the following were noticed concerning the PRRSV-1 MLV vaccination of pregnant gilts on the 100<sup>th</sup> day of their gestation:

1. The exposure of the experimental gilts to the MLV strains through vaccination did not cause any effects on their health and behavior. Local or systemic clinical signs such as fever, anorexia, and reproductive failure were not observed in vaccinated sows during the final stage of gestation. No increased reproductive disorders were found in vaccinated gilts, as only 2% of the experimental gilts performed premature farrowing. Finally, no local reaction or adverse reaction at the injection site occurred at injection the site.
2. The PRRSV MLV strain can cross the porcine placenta and subsequently infect fetuses, causing lesions of incipient interstitial pneumonia in piglets.
3. The detection of PRRSV specific antibodies in serum of infected newborn piglets was suggested due to *de novo* synthesis. The presence of PRRSV antibodies was reported possibly as a result of PRRSV MLV strain infection of piglets and the presence of the MLV virus in the fetal circulation.
4. Exposure of newborn piglets during their intrauterine life to a PRRSV MLV strain of adversely affected their respiratory system, causing lesions of interstitial pneumonia.

Therefore, our study provides strong evidence that severe risks may arise from late PRRSV MLV vaccination of gilts. According to our findings, pig farms applying PRRSV MLV vaccination as a routine blanket vaccination strategy should avoid the administration of vaccination to pregnant gilts during the last two weeks before parturition. Although PRRSV vaccination does not necessarily provide complete protection against virus infection, it is a key tool for PRRSV control. Thus, it is crucial that the critical points in the various PRRSV vaccination protocols are taken into consideration to avoid potential risks from their implementation. Future field trials our required to enhance our indications and further support the ability of the vaccine virus to act as a wild virus even in cases where the PRRSV vaccine is given before the 100<sup>th</sup> day of gestation.