UTVRĐIVANJE ČIMBENIKA RIZIKA I UČINKA RAZINE BIOSIGURNOSTI NA PREVALENCIJU INFEKCIJE VIRUSOM BOLESTI AUJESZKOGA U POPULACIJI DOMAĆIH SVINJA U HRVATSKOJ

Acinger- Rogić, Žaklin

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:296898

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

ŽAKLIN ACINGER-ROGIĆ, dr.med.vet.

UTVRĐIVANJE ČIMBENIKA RIZIKA I UČINKA RAZINE BIOSIGURNOSTI NA PREVALENCIJU INFEKCIJE VIRUSOM BOLESTI AUJESZKOGA U POPULACIJI DOMAĆIH SVINJA U HRVATSKOJ

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2022.

University of Zagreb

VETERINARY FACULTY

ŽAKLIN ACINGER-ROGIĆ, DVM

DETERMINATION OF RISK FACTORS AND EFFECT OF BIOSECURITY LEVEL ON THE PREVALENCE OF INFECTION WITH AUJESZKY'S DISEASE VIRUS IN THE DOMESTIC PIG POPULATION IN CROATIA

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2022

Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

ŽAKLIN ACINGER-ROGIĆ, dr.med.vet.

UTVRĐIVANJE ČIMBENIKA RIZIKA I UČINKA RAZINE BIOSIGURNOSTI NA PREVALENCIJU INFEKCIJE VIRUSOM BOLESTI AUJESZKOGA U POPULACIJI DOMAĆIH SVINJA U HRVATSKOJ

DOKTORSKI RAD

Mentori:
prof. dr. sc. Marina Pavlak
izv. prof. dr. sc. Lorena Jemeršić

Zagreb, 2022.

University of Zagreb

VETERINARY FACULTY

ŽAKLIN ACINGER-ROGIĆ, DVM

DETERMINATION OF RISK FACTORS AND EFFECT OF BIOSECURITY LEVEL ON THE PREVALENCE OF INFECTION WITH AUJESZKY'S DISEASE VIRUS IN THE DOMESTIC PIG POPULATION IN CROATIA

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:
Marina Pavlak, DVM, PhD, Full Professor
Lorena Jemeršić, DVM, PhD, Associate Professor

Zagreb, 2022

Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

I Z J A V A

Ja, Žaklin Acinger-Rogić, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima do onih navedenih u radu.

Žaklin Acinger Rogić

(potpis studenta)

Zagreb, 2022.

Z A H V A L A

Od sveg srca zahvaljujem kolegicama i mentoricama prof. dr. sc. Marini Pavlak i izv. prof. dr. sc. Loreni Jemeršić, prije svega na stručnoj podršci i savjetima te zatim na stalnom ohrabrenju i kolegijalnoj pomoći tijekom izrade rada.

Zahvaljujem svojim kolegicama s posla koje su uskočile kad je bilo najpotrebnije i kolegicama Ankici i Sanji od kojih sam učila u počecima i koje su mi stalna inspiracija.

Zahvaljujem kolegama i kolegicama s Hrvatskog veterinarskog instituta na podacima i pojašnjenjima potrebnim za završetak rada.

Zahvaljujem i onima koji su tijekom mojeg Doktorskog studija pred mene stavljali zanimljive izazove i time me dodatno ojačali.

Od institucija i organizacija, zahvaljujem Ministarstvu poljoprivrede, Upravi za veterinarstvo i sigurnost hrane, Hrvatskom veterinarskom institutu te ovlaštenim veterinarskim organizacijama, bez kojih ne bi bilo ovog rada.

Zahvaljujem svojim prijateljima koji su strpljivo slušali moja promišljanja, prolazili sa mnom sve faze izrade rada i bili mi velika podrška.

Svojoj obitelji zahvaljujem i dugujem najviše što su tijekom mojeg doktorskog studija trpjeli i prolazili sa mnom sve moje uspone i padove, posebno moj suprug i moja djeca Leda, Nika i Deni.

Mami i tati vječno sam zahvalna na svemu, najviše na strpljenju, a samo oni znaju koliko sam ga testirala.

I na kraju, ali rekla bih najvažnije, želim se zahvaliti svim kolegicama i kolegama na terenu koji su zaslužni za svaki uzorak krvi i svaki podatak obrađen u ovom radu te njima i posvećujem ovaj rad.

A ja ne bi bila ja kad ne bi spomenula i svoje pse Abby, Hopso, Misty, Kelly koji su stalno uz mene i oni koji više nisu sa mnom Tim, Reta, Blue, Areta i Floki, bez kojih danas ne bi bila ovo što jesam.

SAŽETAK

Bolest Aujeszkoga endemična je u mnogim dijelovima svijeta, a iako je iskorijenjena u većini država članica Europske unije, postoje područja i države u kojima ona i dalje perzistira. U Republici Hrvatskoj bolest još uvijek nije iskorijenjena iz populacije domaćih svinja, iako se program iskorjenjivanja provodi od 2013. godine. U ovom radu analizirani su rezultati nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga provedenog u razdoblju od 2013. do 2021. godine s ciljem utvrđivanja stvarne prevalencije bolesti Aujeszkoga u domaćih svinja i rizičnih čimbenika za perzistenciju ovog virusa u populaciji domaćih svinja. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po godinama istraživanog razdoblja kretala se u rasponu od 4,66 do 0,67%, a najveća prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava utvrđena je u Varaždinskoj županiji (12,14%) dok je najmanja bila u Krapinsko-zagorskoj županiji (0,15%). Kao značajne varijable koje utječu na prevalenciju bolesti Aujeszkoga utvrđeni su rizični čimbenici: označavanje svinja tetoviranjem, uginuća u posljednja 3 mjeseca, prisustvo nerasta na gospodarstvu, držanje svinja na otvorenom, nabava hrane za životinje od drugih proizvođača i proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu pri čemu se djelovanje ovih čimbenika razlikuje po županijama i po kategorijama gospodarstava vezano na biosigurnost. Utvrđeno je kako se broj pozitivnih gospodarstava kod sukcesivnog testiranja smanjivao što ukazuje na učinkovitost mjera kontrole na zaraženim gospodarstvima. Kako bi iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga bilo brže i učinkovitije nadziranje se mora bazirati na prostorno određenim veličinama uzorka (po županijama i broju gospodarstava) pri CI 95% i zadanoj prevalenciji od 1% kako bi se brže identificirala preostala pozitivna gospodarstva, a dizajniranje nadziranja treba biti bazirano na riziku na način da se gospodarstva izložena rizičnim čimbenicima obuhvate testiranjem. Istovremeno s provedbom nadziranja bolesti Aujeszkoga potrebno je provoditi aktivnosti s ciljem uklanjanja ili smanjivanja utvrđenih rizičnih čimbenika na gospodarstvima. Upitnik za kategorizaciju vezano za biosigurnost trebalo bi prilagoditi s naglaskom na rizične čimbenike utvrđene ovim radom kako bi se onemogućilo davanje neodređenih i nespecifičnih odgovora čime bi se umanjio utjecaj pristranosti.

Ključne riječi: bolest Aujeszkoga, prevalencija, rizični čimbenici, biosigurnost, domaće svinje

EXTENDED ABSTRACT

INTRODUCTION: Aujeszky's disease is a viral disease of many species of domestic and wild animals. The natural host of the Aujeszky virus is pig, however, Aujeszky's disease infects many vertebrates, e.g., cattle, sheep, goats, dogs, cats, rodents, and others. Infection with the Aujeszky virus in animals other than pigs almost always results in the death of the infected animal. Aujeszky's disease is endemic in many parts of the world, but there are areas and countries that have successfully eradicated the disease. Aujeszky's disease causes great economic damage, not so much because of the direct effect but because of the damage caused by trade barriers. Although Aujeszky's disease has been eradicated in most European Union Member States, there are areas and countries where Aujeszky's disease still persists. As the most probable reason for the re-emergence of Aujeszky's disease in the previously free area is the circulation of Aujeszky's disease virus in feral pigs. In Croatia, the disease has not yet been eradicated from the domestic pig population, although the eradication program has been implemented since 2013 and to date only 27,672 out of a total of 72,144 farms have achieved Aujeszky's disease-free status. This fact calls into question the current strategy for the eradication of this disease in Croatia since many farms still have an unknown status of Aujeszky's disease. Therefore, this paper conducted an analysis of previous results and data on farms to assess the actual prevalence in the population and to assess and determine risk factors such as locations, categories of pigs kept housing practices and applied biosecurity measures. The results of the research are used to devise a new effective strategy and policy in the approach to controlling Aujeszky 's disease in Croatia with the aim of eradicating it.

REVIEW OF THE LITERATURE: According to historical data, it can be concluded that Aujeszky's disease was widespread. Namely, records found in America and Europe from the 19th century describe an animal disease that was later determined to be Aujeszky’s disease. Since signs of the disease were observed in different species of animals, Aujeszky's disease was initially associated with the disease in cattle, dogs, and cats, and only later it was proven that pigs are the only natural hosts of this disease. In Europe, the first etiological evidence of Aujeszky's disease was recorded in 1902 by the Hungarian pathologist Aujeszky Aladár, after whom the disease was later named (AUJESZKY,

1902). The first record of Aujeszky's disease in Croatia dates from 1904 (CVETNIĆ, 1997). ZWICK and ZELLER (1911) studied a disease they called pseudorabies, and MAREK (1904) investigated a similar disease called acute bulbar paralysis. STREBEL (1889) described the onset of a disease characterized by severe itching in four cattle from a farm in Switzerland, however, without a clear etiology. In the mid-twentieth century, based on immunological studies, the creation of intranuclear inclusions, and ether sensitivity, the virus was classified as the Aujeszky's disease virus (pseudorabies - PrV) from the herpesvirus group (SABIN, 1934; KAPLAN and VATTER, 1959). Given the different signs of the disease in pigs from those in other species, pigs were initially only sporadically associated with the onset of Aujeszky's disease, and it was not until the late first half of the twentieth century that pigs were found to be reservoirs of the disease. Aujeszky's disease is caused by swine *alphaherpesvirus* 1 (abbreviations: SuAHV1; PRV) from the genus *Varicellovirus*, a subfamily of *Alphaherpesvirinae*, family *Herpesviridae*, as classified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV; Database issue https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=10345&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock) (LEFKOWITZ et al, 2018; GATHERER et al, 2021).

Herpesviruses are highly adapted to their hosts, numerous mammals, birds, and reptiles. After a primary infection, these viruses can cause a lifelong latent infection. Severe clinical signs of disease after herpes virus infection usually develop only in very young or immunocompromised infected individuals, in fetuses, or in individuals who are not natural hosts of the virus (GATHERER et al., 2021). Despite significant homology with human *alphaherpesviruses* and a wide range of hosts, Aujeszky's disease virus is not transmitted to humans (POMERANZ et al., 2005). There are sporadic cases of the disease in humans that have been linked to Aujeszky's disease virus, but it is generally considered that Aujeszky's disease is not a zoonosis (EFSA, 2017). The genome spans approximately 140-143 kpb and contains at least 72 open reading frames (ORFs) encoding 70 different proteins. A linear double-stranded molecule is composed of two components, L and C. Double-stranded DNA is encased in a protective capsid that forms a nucleocapsid, protein matrix, or viral tegument that separates the nucleocapsid from the outer lipoprotein envelope made up of 11 viral glycoproteins (gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gN, gL, gL,

gL, gL, gL,) (POMERANZ et al., 2005). Infection of cells with herpesviruses begins with the attachment of free virions to target cells, followed by the fusion of the viral envelope and the cell cytoplasmic membrane and replication. The main sites of Aujeszky's disease virus latency are the trigeminal ganglia, olfactory bulb, and tonsils. In these organs, viral DNA can be detected even when no infectious virus is produced, and the fragment responsible for latency can also be detected by highly sensitive methods such as real-time polymerase chain reaction or RT-PCR. It is hypothesized that after oronasal infection, Aujeszky's disease virus first multiplies in epithelial tissue and can enter directly into the terminals of nasopharyngeal sensory neurons. After this first multiplication, the virus multiplies abundantly, leading to increased infection of primary neurons (METTENLEITER, 2000). One of the key proteins for neuroinvasiveness of Aujeszky's disease virus is gE, and its removal strongly weakens (attenuates) the virus, while the ability of its primary multiplication remains preserved. Removal of gE affects the inhibition of transinaptic transmission to other neurons thereby substantially reducing its neuroinvasiveness (METTENLEITER, 2000). Aujeszky's disease virus is resistant to external conditions, which largely depends on the level of pH, humidity, and temperature. Heat treatment of meat, sausages, and ham at a temperature of 80 ° C destroys the Aujeszky's disease virus. In manure the virus can survive for a month in summer and two months in winter, while in soil it can survive for five to six weeks. It can be kept on hay and straw for 15 days in summer and 40 days in winter, and on other surfaces (bags, wooden surfaces) it can survive for 10 days in summer and 15 days in winter (EFSA, 2017). Heating kitchen waste at 70 ° C destroys the virus in 10 and 5 minutes at 80 ° C, respectively (WITTMANN, 1991). Inactivation of Aujeszky's disease virus in aerosol depends on temperature and relative humidity, and generally about 50% of the virus is destroyed within 24 hours (SCHOENBAUM et al., 1990).

Aujeszky's disease virus is sensitive to disinfectants based on orthophenolphenate compounds, peracetic acid, formalin, 2% sodium hydroxide, trisodium phosphate iodide, 1-2% quaternary ammonium compounds, hypochlorite, and chlorine (chlorhexidine) (BERAN, 1991). Aujeszky's disease virus has spread almost all over the world. The disease occurs in the population of pigs, domestic and wild, and sporadically in other species of animals, most often carnivores and ruminants. There is ample evidence of virus confirmation in wild animals, especially in wild pigs, which are the main reservoir of the

virus, whose circulation in wild pigs has also been confirmed in Croatia (KEROS et al., 2014). Pigs (*Sus scrofa*) are the only natural hosts of Aujeszky's disease virus and are considered a reservoir of this virus (METTENLEITER et al., 2019). Pigs usually do not show clinical signs, except in younger age groups and newborn piglets, but pigs remain permanently infected after recovery and may occasionally shed the virus. It is this ability of the Aujeszky's disease virus to latency in seemingly healthy pigs that is the reason for the long-term survival of the virus in the population, especially in the feral pig population, which can be a permanent source of re-infection of domestic pigs. In countries with developed intensive pig production, Aujeszky's disease was successfully brought under control by the implementation of eradication during the second half of the twentieth century, mainly in combination with a vaccination strategy. Aujeszky's disease is spread by direct contact with an infected animal or indirect contact with contaminated objects, air (aerosol) (VANNIER, 1989), food (STOIAN et al., 2020), litter or surfaces contaminated with contaminated secretions (LI et al., 2020). Aujeszky's disease virus is excreted in saliva, nasal secretions, urine, feces, vaginal secretions, and pig semen, and can also be transmitted to suckling piglets by colostrum-infected sows (BERAN, 1991). Aujeszky's disease virus enters the body horizontally through the nose and mouth (oronasal), sexually after mating or insemination, and vertically transplacental. In pig farming, Aujeszky's disease most often enters by introduction an infected animal where it spreads rapidly within the naive population.

In the last ten years, the occurrence of Aujeszky's disease in intensive domestic pig breeding in China has been associated with the spread of a new variant of Aujeszky's disease virus in the vaccinated pig population (XIA et al., 2018). The manifestation of signs of Aujeszky's disease in infected pigs depends on several factors, the category and number of pigs, their immune status, and the way they are kept. The primary infection takes place in the upper respiratory tract after the Aujeszky's disease virus enters the pig's body through the mucous membranes of the eye and nose. In the nasal septum, tonsils, nasopharynx, trachea, and lungs, it causes infection of epithelial cells, which causes the destruction and erosion of the epithelium. At this stage, the infection is manifested by mild signs by the respiratory system, such as sneezing, coughing, shortness of breath, and nasal discharge. These signs appear three to six days after the infection and can last up to ten days. Infected pigs generally recover very quickly, unless they develop pneumonia

due to secondary bacterial infections. Virus excretion can be detected from the first to the 14th day after inoculation. To detect Aujeszky's disease virus in animals with a clinical picture, virus isolation methods and viral genome detection by PCR method are used. The PCR method for the detection of Aujeszky's disease virus DNA in organ samples is considered the method of choice. Serological diagnosis is applied to detect antibodies to Aujeszky's disease virus mainly in subclinical or latent infected pigs by ELISA tests. The immune response in infected and vaccinated pigs is very rapid but the rate of immune response depends on the strain of the virus, the route of entry and the immune status of the animal. Specific serum antibodies are present in the blood of pigs already at the appearance of clinical signs of the disease (KRETZSCHMAR, 1970). By highly sensitive serological methods such as the ELISA test, antibodies can be detected as early as 5 to 7 days after inoculation, and the by the virus neutralization test (VNT) only from the 12th day. In accordance with European legislation and WOAH recommendations and based on the experience of countries that have successfully eradicated Aujeszky’s disease from the domestic pig population, in addition to vaccination against Aujeszky's disease, other control measures should be applied to protect pig farms from infection. The methods of keeping pigs, hygiene and biosecurity measures are a prerequisite for successful protection of pig breeding from Aujeszky's disease. In case of disease, infected pigs that show clinical signs are killed, and latent infected (seropositive) pigs are sent for slaughter. Healthy pigs must be kept separate with all biosecurity measures in place to prevent the spread of the virus within the holding. In case of high prevalence in pig farms or in a certain area, DIVA vaccines can be used in the first phase of eradication to minimize the further spread of the disease, followed by testing and removal of the remaining seropositive pigs. In the final stage of eradication, vaccination is generally stopped, and after successful eradication, depopulation of breeding with seropositive pigs is carried out as a final measure. Direct losses sampled due to Aujeszky's disease can be very large if a virulent virus is introduced into the naive pig population. However, in pig production, losses are not so much related to direct damage due to death, abortion, or clinical manifestation but to indirect economic costs incurred due to control measures and trade reasons. In the European Union, Aujeszky's disease is on the list of diseases that must be officially reported to the competent animal health authority of each member state and to the European Union in accordance with European legislation. European Union legislation

prescribes disease control measures and conditions for the movement of pigs in respect of Aujeszky's disease. The Animal Health Law (Regulation (EU) 2016/429) and Implementing Regulation 2018/1882 (ANONIMUS, 2016, ANONIMUS, 2018) classify Aujeszky's disease as a Category C disease called Aujeszky's disease virus infection. World Organisation for Animal Health (WOAH) classifies Aujeszky's disease on the list of diseases as a disease of several species of animals, which must be reported. RES in Chapter 8.2. The Manual for Terrestrial Animals (WOAH, 2021) provides recommendations for the trade of pigs and products of pig origin. Aujeszky's disease has spread throughout the world but there are countries and areas that are considered free. However, in these areas or countries, the virus may be present in the feral pig population, which poses a constant risk of recurrence of Aujeszky's disease in domestic pigs. There are only a few regions in the world where Aujeszky's disease has never become endemic, and these are Norway, Australia, and most of the south-eastern islands of Asia. During 2021, Aujeszky's disease reoccurred in both Hungary and France. In Croatia Aujeszky's disease was confirmed in 2004 and again in 2011, since when it has been continuously confirmed every year. During the period of implementation of the control and eradication program from 2013 to 2020, Aujeszky's disease was confirmed in latent infected pigs by serological testing. The progress of the eradication program and the assessment and analysis of applied strategies for the control and eradication of Aujeszky's disease have been described using various epidemiological and statistical methods (MARTINI et al., 2003; ALLEPUZ et al., 2009). In free countries and territories, the research mainly concerns the assessment of the risk of introduction of Aujeszky's disease virus by swine trafficking or contact with feral pigs and the identification and assessment of risk factors (MÁRTINEZ-LÓPEZ et al., 2009) by using of different mathematical models.

MATERIAL AND METHODS: To be able to conduct a comprehensive analysis and draw conclusions, the materials used in this paper are divided into several groups, i.e., levels, adapted to the objectives of the research:

- population: animals and farms in the period from 2013 to 2021
- laboratory testing for Aujeszky's disease in the period from 2013 to 2021
- comparative data on categorized farms and testing for Aujeszky's disease on 31.1.2021.

The analysis was done within each group separately, and the result of separate analyzes in each group/level were discussed, compared for the purpose of conclusions, and providing basis for guidelines for developing a new more effective strategy and policy in the risk-based approach to Aujeszky's disease control in Croatia. The population covered by this research consists of domestic pigs kept on farms from the entire territory of Croatia divided by counties. Population of domestic pigs in Croatia on 31.12.2021. counts 1,257,753 pigs on 72,144 farms. The results of serological tests by ELISA Pseudorabies Virus gpI Antibody test Kit, IDEXX PRV/ADV gI for 219,974 blood samples of pigs taken from 36,255 farms within the active surveillance were analyzed. The assessment of risk factors for Aujeszky's disease included an analysis of 30,687 categorized farms on which at least one Aujeszky's disease test was conducted in 15 counties. Due to the small number of tested farms (less than 10), four counties were not considered, namely Primorje-Gorski Kotar, Split-Dalmatia, Šibenik-Knin and Lika-Senj County. In analysis statistical methods and metaregression model were used. For data processed at the sample level, the exact binomial test estimated confidence limits considering the 95% confidence interval (CI 95%) and the differences at $P < 0.05$ were considered significant. population, an exact binomial test calculated the confidence limits considering the confidence level of the 95% confidence interval (CI 95%). Data on testing were spatially and temporally processed and presented by counties for each year in the period from 2013 to 2021 according to the determined prevalence. To show the spatial distribution of positive farms in Croatia, using the ArcGIS system, maps were made for each year of the research period. To assess the interaction of risk factors (variables), a model was developed which, by modeling the original data for monitoring the situation on farms in the period from 2013 to 2021 and through multiple visits (maximum 9), enabled easy reading of the impact of individual variables and interactions between a total of 84 independent variables from the questionnaire.

RESULTS: Croatian pig population counts 72144 farms with 1.257.753 distributed by the counties namely on the continental part of Croatia. The largest total number of farms is in Osijek-Baranja and Krapina-Zagorje counties. Considering categories of farms depending on biosecurity level distribution the largest number of category 2 farms is in Krapina-Zagorje County, while Osijek-Baranja and Vukovar-Srijem counties have the

largest number of category 3 farms. A total of 219,974 samples were serologically tested out of which 3,815 samples were positive. The share of positive farms above 5% was recorded in Varaždin County (10.28%), Split-Dalmatia County (7.69%) and Osijek-Baranja County (5.93%), while in other positive counties was below 5%. Last confirmation of the Aujeszky's virus by PCR was in 2013 in two domestic pigs. The assessment of the relationship between the exposure of the holding to one of the analyzed risk factors was based on a comparison of the results of positive (at least one serologically positive pig found) and negative farms (farms where no seropositive pig was found). Logistic regression analysis was used to test for differences, and the strength of the association was described by the probability of exposure to infection associated with positive farms - OR (odds ratio). The average prevalence in the analyzed farms at the country level was 4.09%. Lower-than-average prevalence was found in 7 (46.67%) counties: Krapina-Zagorje 0.15%, Karlovac 0.24%, the City of Zagreb 1.10%, Požega-Slavonia 1.54%, Virovitica-Podravina 2, 42%, Brod-Posavina 2.28% and Zagreb 2.60%. The highest prevalence of Aujeszky's disease at the farm level was significantly higher in Varaždin County (12.14%) compared to other counties where it ranged from 0.15% (Krapina-Zagorje) to 7.46% (Sisak-Moslavina) <0.01). Testing the difference showed that the largest difference in the number of farms in categories 1 and 2. The City of Zagreb, Varaždin, Krapina-Zagorje and Međimurje counties have the same distribution of categories. Compared to others, these counties have a significantly smaller number of farms in category 1 (from 22.10% to 24.65%), and a significantly larger number of farms in category 2 (from 53.88% to 68.29%). Also, in Varaždin County and the City of Zagreb, and then in Vukovar-Srijem and Sisak-Moslavina counties, a significantly larger number of farms is in category 3. Comparing the number of farms by categories in Varaždin and Krapina-Zagorje counties with the prevalence of Aujeszky's disease in these counties, despite the equal distribution of categories, they have a statistically significantly different prevalence and Krapina-Zagorje County the lowest (0.15%) and Varaždin the largest (12.14%) (P <0.05). The results of categorization, i.e., the answers to the questions from the questionnaire were analyzed as individual variables divided into groups. All the results obtained in the total sample were analyzed to find the main factors that could be associated with Aujeszky's disease-positive farms and to assess the strength of the association of these factors with positive farms. Significant variables influencing the

prevalence of Aujeszky's disease were marking pigs with tattoos, deaths in the last 3 months, the presence of boars on the farm, keeping pigs outdoors, purchasing animal feed from other producers and producing litter on their own farm. The model determined the reduction of positive farms in successive testing, which indicates the effectiveness of control measures on infected farms. The model for estimating the interaction of variables has determined that individual variables can have a synergistic effect that can reduce or increase the likelihood of infection with Aujeszky's disease virus.

DISCUSSION: The prevalence of Aujeszky's disease at the level of farms by years of the study period ranges from 4.66 to 0.67%, while the prevalence of Aujeszky's disease varies by counties from 0.15% to 12.14% and by categories from 3.44% in Category 0 to 15.00% in Category 4. The highest prevalence of Aujeszky's disease was found in Varaždin County (12.14%), and the lowest in Krapinsko-Zagorje County (0.15%). Based on data from testing performed in the study period, it is concluded that the prevalence of Aujeszky's disease decreased from 4.66% in 2014 to 1.03% in 2021 by applying an eradication strategy in such a way that positive pigs were culled (test and slaughter strategy). However, it is important to mention that free farms were not included in the regular annual active surveillance of Aujeszky's disease during 2018-2021, which may represent a gap in the knowledge of the real status of free farms in relation to Aujeszky's disease. It is known that in parallel with a decrease in prevalence, the susceptibility of the population to Aujeszky's disease virus infection increases and the virus can spread again in free areas (PENSAERT and MORRISON, 2000). Continuous sporadic confirmation of Aujeszky's disease in previously free states supports this finding (ANONIMUS, 2020). Detection of new, potentially more virulent strains of Aujeszky's disease virus, such as MdBio wild-type virus isolated in Serbia (ZSOLT et al., 2019) is also an additional risk and a new source of infection for the domestic pig population.

The analysis of risk factors revealed significant variables that also differ within the categories of farms, and most of the variables also differ by counties. This was also confirmed by the assessment of the risk exposure of individual areas / counties in relation to the county with the lowest prevalence (Krapina-Zagorje, 0.15%). The prevalence of less than 1% is usually the designed prevalence in disease eradication programs, i.e. the establishment of disease-free areas (ANONIMUS, 2020). The exposure estimate was

from 6.52 (Varaždin County) to 44.13 (Osijek-Baranja) times higher than in Krapina-Zagorje County, while the exposure estimate depending on the category was significantly higher for category 4 in relative to category 0. To analyze risk factors in more detail and their effects over time, an applied mathematical model was developed based on the dynamics of the number of positive farms over time and the presence of the examined risk factor. The model compared the performance of factors and positive farms that were tested multiple times (in the model called visits). The number of positive farms in some counties has increased significantly over time, which is especially evident in Varaždin, Sisak-Moslavina, Bjelovar-Bilogora and Koprivnica-Križevci counties, which indicates that in these counties the activity of some risk factors more significantly than in others. The probability of infection on farms where tattooing was applied on positive farms was 2.77 times higher (OR = 2.77 (CI 95% 1.47-5.23, P = 0.0016) compared to negative farms. For the association of pig deaths on positive farms, it was found that on farms where deaths were reported the probability of infection is 1.73 (CI 95% 1.33-2.25, P <0.0001) times higher than on negative farms. The presence of boars on farms increases the probability of infection on positive farms by 1.85 (CI 95% 1.60-2.14, P <0.0001) times compared to negative farms. Outdoor pig keeping increases the probability of infection by 2.13 (CI 95% 1.29-3.51, P = 0.0031), which means that the probability of Aujeszky's disease on positive farms due to keeping pigs outdoors is 2.13 times larger than if pigs are kept indoors in closed facilities. The probability of Aujeszky's disease infection on farms that purchased food from other producers is 1.47 (CI 95% 1.31-1.65, P <0.0001) times higher than on farms that do not. Litter production on own farm has proven to be one of the important factors associated with positive farms. The probability of Aujeszky's disease on farms that produce the own litter is 1.88 (CI 95% 1.31-2.69, P = 0.0006) times higher than on farms that do not produce it. Each of the risk factors were confirmed by model as well. A model that enabled the analysis of two variables and their mutual interaction was developed. Based on the results, individual variables, if they act simultaneously, can lead to a decrease, or increase in infection on the farm. Thus, natural mating has been shown to increase the spread of infection, pest control and regular cleaning and disinfection reduce the possibility of infection spreading between farms, although another factor present on the holding at the same time contributes to infections. On the other hand, if there is a satisfactory factor such as a neatly fenced holding with

controlled entry of persons and vehicles into the facility, and if disinfection is not carried out, the infection spreads. Furthermore, feeding food containing waste from the food industry has been shown to reduce the spread of Aujeszky’s disease. Deviations by categories were also evident. The model analyzed all variables and determined an unexpected result for individual variables in the sense that the desired treatment affects greater exposure to infection. This may lead to conclusion that the questions in the questionnaire are designed so that the answers can be vague and non-specific, i.e., biased, which leads to this result of the analysis. In conclusion, the model found a reduced number of infected farms during successive testing, which indicates the effectiveness of control measures implemented on positive farms. However, the prevalence has been shown to be different in different areas, which indicates the need to define monitoring and eradication programs for individual areas (counties) according to prevalence. Farms exposed to these factors should be the first to be considered and further testing is advisable. At the same time, it is advisable to reduce the incidence of risk factors at the same time, which can also lead to a reduction in the prevalence of Aujeszky's disease at the animal level, and thus at the farm level. Since the eradication of Aujeszky's disease is envisaged by European legislation in a way that covers the entire population of domestic pigs, the risk factors found in this paper can be used when planning risk-based surveillance of free farms (areas). At the same time, the questionnaire should be revised in accordance with the analyzed risk factors in such a way that the questions are adjusted so that certain risk factors are further examined, and indefinite and non-specific answers are avoided in order to reduce the possibility of bias. Simultaneously with the implementation of sampling and testing of farms for Aujeszky's disease, it is necessary to carry out activities aimed at eliminating or reducing risk factors identified as significant for Aujeszky's disease.

POPIS SLIKA

Slika 1. Filogenetska povezanost unutar potporodice *Alphaherpesvirinae* 6

Slika 2. Kompletan genom virusa bolesti Aujeszkoga 7

Slika 3. Struktura virusa bolesti Aujeszkoga 11

Slika 4. Virion virusa bolesti Aujeszkoga pripojen na stanicu stanične kulture 12

Slika 5. Ciklus umnažanja virusa bolesti Aujeszkoga 13

Slika 6. Fokalne nekrotične lezije u plućima 21

Slika 7. Multifokalne koagulativne nekroze parenhima slezene 21

Slika 8. Bijele točkaste promjene po jetri 22

Slika 9. Prase s rinitisom i konjunktivitisom uzrokovano virusom bolesti Aujeszkoga 23

Slika 10. Nekroza nosa izazvana virusom bolesti Aujeszkoga 23

Slika 11. Bronhiolarne nekroze i inkulzije broniholarnih stanica 25

Slika 12. Mapa područja s pojavom bolesti Aujeszkoga prema podacima 33

Slika 13. Mapa država i područja slobodnih od bolesti Aujeszkoga u Europskoj uniji . 34

Slika 14. Izbijanje bolesti Aujeszkoga u 2021. godini prema prijavi u ADIS 36

Slika 15. Distribucija gospodarstava prema kategorijama i županijama 59

Slika 16. Dinamika rezultata pretraživanja uzoraka po godinama 62

Slika 17. Ukupni udio pozitivnih gospodarstava po županijama 62

Slika 18. Udio pozitivnih gospodarstava po godinama 63

Slika 19. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2013. godini 63

Slika 20. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2014. godini 64

Slika 21. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2015. godini 64

Slika 22. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2016. godini 65

Slika 23. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2017. godini 65

Slika 24. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2018. godini 66

Slika 25. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2019. godini 66

Slika 26. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2020. godini 67

Slika 27. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2021. godini 67

Slika 28. Usporedni prikaz gustoće gospodarstava i prevalencije gospodarstava po županijama 74

Slika 29. Korelacija gustoće gospodarstava i prevalencije gospodarstava po županijama 74

Slika 30. Usporedni prikaz gustoće svinja i prevalencije gospodarstava po županijama75

Slika 31. Korelacija gustoće svinja i prevalencije gospodarstava po županijama..... 75

Slika 32. Ukupan broj svinja po pojedinoj uzgojnoj kategoriji u odnosu na broj pozitivnih svinja unutar uzgojnih kategorija: krmače (gore lijevo), nazimice (gore desno), nerasti (sredina lijevo), tovljenici (sredina desno), prasad (dolje lijevo) te svinje ukupno (dolje desno) 77

Slika 33. Uzgojna struktura gospodarstava po kategorijama 78

Slika 34. Udio broja gospodarstava po kategoriji unutar županija 80

Slika 35. Postotak zaraženih farmi po varijablama prilikom prvog posjeta (farme na kojima je čimbenik bio prisutan (1) i farme na kojima čimbenik nije bio prisutan (0)) 96

Slika 36. Razlika postotka za vrijednost varijable 0 (čimbenik nije prisutan) i 1 (čimbenik prisutan) prilikom 1. posjeta..... 96

Slika 37. Razmak između posjeta u danima 97

Slika 38. Postotak zaraženih po županijama i kategoriji 98

Slika 39. Postotak zaraženih po županijama i posjetu 98

Slika 40. Varijabla 2.2 - Prosjek pozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta na farmama koje tetoviraju (1) i koje ne tetoviraju svinje (0) 99

Slika 41. Varijabla 2.2 - Broj i postotak farmi koje tetoviraju (1) i koje ne tetoviraju svinje (0) tijekom sukcesivnih posjeta 100

Slika 42. Varijabla 2.2 - Procjena prosječnog broja zaraženih po farmi koja tetovira (1) i ne tetovira (0) svinje tijekom sukcesivnih posjeta 100

Slika 43. Varijabla 2.5. - Prosjek pozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka za farme koje imaju (1) i nemaju (0) neoznačenih svinje bez krmače tijekom sukcesivnih posjeta 101

Slika 44. Varijabla 2.5. - Broj i postotak farmi koje imaju (1) i nemaju (0) neoznačenih svinje bez krmače tijekom sukcesivnih posjeta 102

Slika 45. Varijabla 5.5. - Prosjek seropozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koja su imale (1) i nisu imale (0) uginuća 103

Slika 46. Varijabla 5.5. – Broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje su imale (1) i nisu imale (0) uginuća 103

Slika 47. Varijabla 5.5. – Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje su imala (1) i nisu imala (0) uginuća 104

Slika 48. Varijabla 6.7. - Prosjek seropozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije 105

Slika 49. Varijabla 6.7. - broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije 105

Slika 50. Varijabla 6.7. - prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije 106

Slika 51. Varijabla 6.17. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili se ne drže na otvorenom (0) 107

Slika 52. Varijabla 6.17. - Broj i postotak seropozitivnih farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili ne drže na otvorenom (0) 107

Slika 53. Varijabla 6.17. - Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili ne drže na otvorenom (0) 108

Slika 54. Varijabla 7.6. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača 109

Slika 55. Varijabla 7.6. - broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača 109

Slika 56. Varijabla 7.6. - prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača 110

Slika 57. Varijabla 7.9. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju 111

Slika 58. Varijabla 7.9. – broj i postotak zaraženih farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju 111

Slika 59. Varijabla 7.9. – Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju..... 112

Slika 60. Varijabla 7.11. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika 113

Slika 61. Varijabla 7.11. – Broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika 113

Slika 62. Varijabla 7.11. – prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika 114

Slika 63. Utjecaj deratizacije na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima u blizini odlagališta smeća po kategorijama 115

Slika 64. Utjecaj prijevoza svinja na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 116

Slika 65. Utjecaj prirodnog pripusta na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 116

Slika 66. Utjecaj neredovitog čišćenja i dezinfekcije te kontrole ulaska na pojavu bolesti Aujeszkoga po kategorijama 117

Slika 67. Utjecaj neredovitog čišćenja i dezinfekcije te ograde i kontrole ulaska na pojavu bolesti Aujeszkoga po kategorijama 117

Slika 68. Utjecaj hranidbe na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 1 118

Slika 69. Utjecaj hranidbe na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 2 118

Slika 70. Utjecaj proizvodnje i skladištenja stelje na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 119

POPIS TABLICA

Tablica 1. Broj prijavljenih potvrđenih slučajeva i mjesta izbijanja bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj u razdoblju od 2011. do 2021. godine 38

Tablica 2. Brojno stanje svinja prema referentnim godinama 44

Tablica 3. Brojno stanje na dan 31.12.2021. prema veličini gospodarstva 45

Tablica 4. Broj gospodarstava po županijama 45

Tablica 5. Brojno stanje prilikom prve kategorizacije 58

Tablica 6. Brojno stanje na dan 31.12.2021. 59

Tablica 7. Distribucija gospodarstva po županijama i broju krmača 60

Tablica 8. Pregled pretraženih uzoraka po godinama 61

Tablica 9. Pregled uzoraka od domaćih svinja pretraženih PCR metodom 68

Tablica 10. Usporedba rezultata ukupnog broja testiranih gospodarstava i gospodarstava obuhvaćenih analizom 69

Tablica 11. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po županijama... 70

Tablica 12. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po kategorijama 71

Tablica 13. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava prema njihovoj veličini 72

Tablica 14. Broj svinja na analiziranim gospodarstvima po kategorijama 78

Tablica 15. Broj gospodarstava prema kategorizaciji po županijama 79

Tablica 16. Povezanost označavanja i nepravilnosti u označavanju svinja s gospodarstvima pozitivnima na bolest Aujeszkoga 81

Tablica 17. Nepravilno vođenje evidencija i registra svinja i povezanost s pozitivnim gospodarstvima 82

Tablica 18. Povezanosti čimbenika koji se odnose na zdravlje i biosigurnost s pozitivnim gospodarstvima 83

Tablica 19. Zaštita gospodarstva od glodavaca 84

Tablica 20. Povezanost dopreme svinja na gospodarstvo i načina prijevoza svinja s pozitivnim gospodarstvima 84

Tablica 21. Povezanost načina pripusta svinja s pozitivnim gospodarstvima 85

Tablica 22. Povezanost načina držanja svinja s pozitivnim gospodarstvima 86

Tablica 23. Propisane minimalne mjere biosigurnosti na svim gospodarstvima (osim onih koji drže jednu tovnu svinju za vlastite potrebe – kategorija 0) 87

Tablica 24. Čimbenici biosigurnosti primjenjivi za gospodarstva s više od 10 svinja... 88

Tablica 25. Čimbenici biosigurnosti primjenjivi za gospodarstva s više od 100 svinja 88

Tablica 26. Ostali uvjeti držanja vezano na dobrobit i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima 90

Tablica 27. Ostali uvjeti u odnosu na hranidbu i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima 91

Tablica 28. Povezanost ostalih uvjeta u odnosu na proizvodnju, nabavu i skladištenje stelje s pozitivnim gospodarstvima 92

Tablica 29. Povezanost zbrinjavanja stajskog gnoja s pozitivnim gospodarstvima 92

Tablica 30. Objedinjeni glavni značajni rizični čimbenici i ustanovljene razlike po županijama i kategorijama 93

Tablica 31. Vjerojatnost izloženosti rizičnim čimbenicima u pojedinim županijama u odnosu na županiju s najnižom prevalencijom 94

Tablica 32. Vjerojatnost izloženosti rizičnim čimbenicima ovisno o biosigurnosnim kategorijama u odnosu na najnižu prihvatljivu prevalenciju 95

POPIS PRILOGA

Prilog 1 Obrazac BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“

Prilog 2 Završni Obrazac BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“

Prilog 3 Upitnik za kategorizaciju

Prilog 4 Pregled svih rezultata testiranja na bolest Aujeszkoga u razdoblju 2013. – 2021. godine

Prilog 5 Broj svinja na gospodarstvima i gustoća gospodarstava po županijama

Prilog 6 Broj svinja prema uzgojnim kategorijama po županijama

Prilog 7 Uzgojna struktura gospodarstava po kategorijama

Prilog 8 Distribucija gospodarstava s više od 100 svinja po županijama

Sadržaj

1. UVOD 1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA 2
2.1. POVIJESNI PODACI O BOLESTI AUJESZKOGA 2
2.2. ETIOLOGIJA 5
2.2.1. Klasifikacija i nazivlje 5
2.2.2. Genom 9
2.2.3. Umnažanje virusa bolesti Aujeszkoga 11
2.2.4. Latentnost 14
2.3. TENACITET 14
2.4. EPIZOOTIOLOGIJA BOLESTI AUJESZKOGA 15
2.4.1. Širenje bolesti Aujeszkoga 17
2.4.2. Patogeneza, klinička slika i patoanatomske promjene 18
2.5. DIJAGNOSTIKA BOLESTI AUJESZKOGA 25
2.6. IMUNOST 26
2.6.1. Imunosni odgovor u svinja 27
2.6.2. Maternalna imunost 28
2.7. MJERE KONTROLE BOLESTI AUJESZKOGA 28
2.8. BOLEST AUJESZKOGA U EUROPSKOJ UNIJI I SVIJETU 29
2.8.1. Ekonomski značaj 29
2.8.2. Zakonodavstvo Europske unije 31
2.8.3. WOAH preporuke 31
2.8.4. Proširenost bolesti Aujeszkoga u svijetu 32
2.9. BOLEST AUJESZKOGA U HRVATSKOJ 36
2.10. ANALIZA RIZIKA, EPIDEMIOLOŠKE STUDIJE I MODELI U ISTRAŽIVANJU BOLESTI AUJESZKOGA 40
3. OBRAZLOŽENJE TEME 42
4. MATERIJAL I METODE 43
4.1. POPULACIJA 43
4.2. UZORCI 46
4.2.1. Uzimanje i pohrana uzoraka 46
4.2.2. Prijem, obrada i broj uzoraka 47
4.2.3. Serološko pretraživanje 48
4.2.4. Molekularno pretraživanje 50
4.3. PODACI O GOSPODARSTVIMA 52
4.3.1. Kategorizacija gospodarstava 53
4.3.2. Epidemiološko istraživanje i mjere kontrole na pozitivnim gospodarstvima 54
4.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA I ANALIZA RIZIČNIH ČIMBENIKA 55

4.4.1. Statistička analiza i procjena rizičnih čimbenika 55
4.4.2. Izrada modela za praćenje dinamike infekcije i procjene rizičnih čimbenika 56
4.4.3. Izrada modela za procjenu međusobnih interakcija rizičnih čimbenika... 57

5. REZULTATI 58

5.1. POPULACIJA 58
5.2. REZULTATI SEROLOŠKOG PRETRAŽIVANJA SVINJA NA BOLEST AUJESZKOGA.... 60
5.3. REZULTATI MOLEKULARNOG PRETRAŽIVANJA SVINJA NA BOLEST AUJESZKOGA 68
5.4. ANALIZA RIZIČNIH ČIMBENIKA I PROCJENA JAČINE POVEZANOSTI RIZIČNIH ČIMBENIKA S POJAVOM BOLESTI AUJESZKOGA 68
5.5. PROCJENA JAČINE POVEZANOSTI POJEDINIH RIZIČNIH ČIMBENIKA S GOSPODARSTVIMA POZITIVNIMA NA BOLEST AUJESZKOGA 80
5.5.1. Označavanje i registracija svinja 81
5.5.2. Zdravlje životinja i biosigurnost 83
5.5.3. Ostali uvjeti držanja svinja 90
5.6. REZULTATI ANALIZE RIZIČNIH ČIMBENIKA DOBIVENI KORIŠTENJEM MODELA... 95
5.7. REZULTATI ANALIZE MEĐUDJELOVANJA RIZIČNIH ČIMBENIKA I PROCJENE MOGUĆE KONFAUNDING VARIJABLE 114

6. RASPRAVA 120

7. ZAKLJUČCI 134

8. POPIS LITERATURE 136

9. PRILOZI 154

10. ŽIVOTOPIS S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA 168

10.1. POPIS RADOVA 170

1. UVOD

Bolest Aujeszkoga virusna je bolest mnogih vrsta domaćih i divljih životinja. Prirodni domaćin ovog virusa je svinja, međutim, virus bolesti Aujeszkoga inficira i brojne kralježnjake, goveda, ovce, koze, pse, mačke, glodavce i druge. Infekcija virusom bolesti Aujeszkoga u drugih životinja osim svinja, gotovo uvijek rezultira uginućem zaražene životinje. Bolest Aujeszkoga endemična je u mnogim dijelovima svijeta, ali postoje područja i države koje su ovu bolest uspješno iskorijenile. Bolest Aujeszkoga izaziva velike ekonomske štete, ne toliko zbog izravnog učinka već zbog šteta uzrokovanih trgovinskim barijerama. Iako je bolest Aujeszkoga iskorijenjena u većini država članica Europske unije, postoje područja i države u kojima bolest Aujeszkoga i dalje perzistira. Kao najvjerojatniji razlog ponovnog izbijanja bolesti Aujeszkoga u prethodno slobodnom području je cirkulacija virusa bolesti Aujeszkoga u divljih svinja. U Hrvatskoj bolest još uvijek nije iskorijenjena iz populacije domaćih svinja, iako se program iskorjenjivanja provodi od 2013. godine i do 31.12.2021. godine status „gospodarstvo slobodno od bolesti Aujeszkoga“ ostvarilo je samo 27.672 od ukupno 72.144 gospodarstava. Ova činjenica dovodi u pitanje dosadašnju strategiju iskorjenjivanja ove bolesti u Hrvatskoj, budući da veći broj gospodarstava ima još uvijek nepoznati status na bolest Aujeszkoga. Stoga se ovim radom provela analiza dosadašnjih rezultata i podataka o gospodarstvima kako bi se procijenila stvarna prevalencija u populaciji i kako bi se procijenili i utvrdili rizični čimbenici poput lokacije, kategorija držanih svinja, načina držanja te primijenjenih mjera biosigurnosti. Rezultati istraživanja koristiti će za osmišljavanje nove učinkovitije strategije i politike u pristupu kontrole bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj s ciljem njenog iskorjenjivanja.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. Povijesni podaci o bolesti Aujeszkoga

Prema povijesnim podacima može se zaključiti da je bolest Aujeszkoga bila široko rasprostranjena. Naime, zapisi nađeni u Americi i Europi iz 19. stoljeća opisuju bolest životinja za koju se kasnije utvrdilo da se radilo o bolesti Aujeszkoga. Budući su znakovi bolesti bili uočeni u različitih vrsta životinja, bolest Aujeszkoga u početku je bila povezivana s bolesti u goveda, pasa i mačaka, a tek kasnije je dokazano kako su svinje jedini prirodni domaćini ove bolesti.

U Europi je prvi etiološki dokaz bolesti Aujeszkoga zabilježen 1902. godine od strane mađarskog patologa Aladára Aujeszkog po kojemu je bolest kasnije dobila ime (AUJESZKY, 1902.). Aujeszky je opisao kako je tijekom redovne patološke pretrage mozga životinja sumnjivih na bjesnoću, utvrdio pojavu virusa koji može izazvati znakove slične bjesnoći. Prvi takav opis bio je u goveda koje je uginulo istog dana kada je pokazalo prve znakove bolesti. Aujeszky je pripremio emulziju mozga uginule životinje koju je potom injektirao u dva kunića. Nakon 44 sata obje su životinje postale vrlo nemirne, pokazivale su znakove svrbeža uz tonično klonične grčeve muskulature te su nakon tri do četiri sata uginule. Bakteriološka pretraga organa bila je negativa. Pokus je ponovio istim pripravkom od mozga uginulog goveda, ovaj puta davanjem intraokularne, subduralne i intramuskularne injekcije. Kroz 48 sati kunići su uginuli s istim znakovima bolesti. Zatim je potvrdio transmisiju bolesti supkutanim injekcijama emulzije leđne moždine kunića inficiranih intraokularnom, subduralnom i intramuskularnom injekcijom u druge životinje koje su također uginule s istim znakovima bolesti. Tijekom proučavanja ove bolesti, Aujeszky je uočio iste znakove bolesti u psa i mačke te je inokulacija materijala od tih pasa i mačaka u kuniće ponovo rezultirala istim ishodom. Utvrdio je da je inkubacija bila relativno kratka, od 40 do 96 sati te da uzročnik nije osobito kontagiozan što je temeljio na činjenici da su u kavezu u kojem su boravile bolesne životinje, druge životinje ostale zdrave. Iako su se kod inficiranih životinja javljali znakovi slični bjesnoći, s obzirom na uočene razlike poput vrlo kratke inkubacije, brzog razvoja bolesti, infektivnosti krvi, mogućnosti supkutane transmisije te izostanka paralitičnog stadija, Aujeszky je zaključio da postoje određene karakteristike bolesti koje se u potpunosti razlikuju od bjesnoće i da se ne radi o bjesnoći. Sama virusna etiologija bolesti Aujeszkoga potvrđena je nešto kasnije (SCHMIEDHOFER, 1910.).

Prvi zapis o pojavi bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj potiče iz 1904. godine (CVETNIĆ, 1997.). ZWICK i ZELLER (1911.) su proučavali bolest koju su nazvali lažna bjesnoća, a MAREK je (1904.) istraživao sličnu bolest naziva akutna bulbarna paraliza. STREBEL (1889.) je opisao pojavu bolesti koju je karakterizirao jaki svrbež u četiri goveda s jedne farme u Švicarskoj, međutim, bez jasne etiologije. Tijekom svojeg proučavanja Strebel je prikupio brojne informacije o sličnim slučajevima bolesti u goveda i pasa koji su se javljali sredinom 19. stoljeća (KÖHLER i KÖHLER, 2003.). U nešto kasnijim radovima, tijekom prvih deset godina 20. stoljeća, mađarski veterinari opisali su i objavili slučajeve bolesti u pasa, mačaka, goveda i štakora. Tridesetih godina 20. stoljeća njemački veterinari su opisali znakove bolesti u pasa, svinja i goveda što je prvi puta prezentirano na 13. Međunarodnom veterinarskom kongresu u Zürichu 1938. godine. Međutim, tek 1941. godine Heynen prvi puta bolest neizravno dokazuje u svinja u Njemačkoj (KÖHLER i KÖHLER, 2003.).

U Americi, prvi zapisi o ovoj bolesti sežu u prvu polovicu 19. stoljeća. U svojoj studiji o povijesti bolesti Aujeszkoga, Hanson je pretražio i opisao napise u farmskim novinama, koji su dokumentirali pojavu bolesti naziva „ludi svrbež“ (eng. mad itch) u goveda te je zaključio kako se prema opisu kliničkih znakova može smatrati da je bolest Aujeszkoga postojala na američkom kontinentu i stotinu godina ranije iako se tada nije dovodila u uzročno posljedičnu vezu s bolesti u svinja (HANSON, 1954.). Bolest naziva „ludi svrbež“ se prvi puta 1931. godine povezuje s pojavom bolesti u svinja. Tijekom pokusa, supkutanom inokulacijom virusa u dvije svinje izazvana je bolest, međutim, svinje su se vrlo brzo u potpunosti oporavile. Kako bi se dokazala povezanost pojave kliničkih znakova povezanih s „ludim svrbežom“, od svinja su uzeti serumi te su pretraženi virus neutralizacijskim testom. Iz rezultata se zaključilo da su svinje prijemljive na ovu bolest, ali i puno otpornije nego druge testirane vrste životinja (SHOPE, 1931.). U Njemačkoj je Erich TRAUB (1933.) prvi kultivirao virus bolesti Aujeszkoga *in vitro* na tkivima stanica, a Albert SABIN (1934.) je objavio spoznaje o serološkoj povezanosti između virusa bolesti Aujeszkoga i herpes simplex virusa (HSV), što je rezultiralo uključivanjem virusa bolesti Aujeszkoga u skupinu herpesvirusa.

Pokusima baziranim na ultrafiltraciji dokazano je da bolest uzrokuje virus veličine od 100 do 150 nm (SCHMIEDHOFER, 1910.; SHOPE, 1931.; SHOPE, 1934.; ELFORD i GALLOWAY, 1936.) Virus je prvi puta vizualiziran 1952. godine kada su elektronskim mikroskopom proučavane njegove morfološke karakteristike (REAGAN i sur., 1952.).

Sredinom dvadesetog stoljeća na osnovi imunoloških studija, stvaranja intranukelarnih inkluzija i osjetljivosti na eter, virus je klasificiran kao virus bolesti Aujeszkoga (pseudorabies – PrV) iz grupe herpesvirusa (SABIN, 1934.; KAPLAN i VATTER, 1959.).

S obzirom na različite znakove bolesti u svinja od onih u drugih vrsta životinja, svinje su u početku samo sporadično povezivane s pojavom bolesti Aujeszkoga, a tek je krajem prve polovice dvadesetog stoljeća utvrđeno da su upravo svinje rezervoari ove bolesti.

Istraživanja bolesti Aujeszkoga intenzivirana su u drugoj polovici dvadesetog stoljeća usporedno s početkom intenzivnog uzgoja svinja. U to vrijeme bolest Aujeszkoga počela se učestalo javljati u uzgojima svinja i to s izraženim kliničkim znakovima što je imalo za posljedicu i veće ekonomske gubitke. Postoje i spekulacije da se možda radilo i o povećanju virulencije samog virusa bolesti Aujeszkoga no za to ne postoje molekularni niti stanični dokazi (NAUWYNCK i sur., 2007.).

Usporedno s istraživanjem molekularnih značajki virusa provodila su se istraživanja s ciljem razvoja cjepiva protiv bolesti Aujeszkoga. Prvi atenuirani cjepni soj opisao je Bartha 1961. godine (FREULING i sur., 2017.) te je taj soj i nazvan po njemu.

1979. godine virus je po prvi puta klasificiran kao svinjski herpesvirus 1 (suid herpesvirus 1) u porodicu *Herpesviridae*, potporodicu *Alphaherpesvirinae* (MATTHEWS, 1979.).

Svjetska organizacija za zdravlje životinja (WOAH) tada Međunarodni ured za epizootije, 1936. godine u svojoj 4. rezoluciji konstatira kako je potrebno prikupiti nova opažanja o bolesti i prikupiti informacije o njezinom eksperimentalnom proučavanju. Bolest Aujeszkoga je bila predmet interesa WOAH-a (WITTMAN, 1985.) nakon čega je uvrštena na popis bolesti B. WOAH po prvi puta u petom izdanju svojeg Međunarodnog zoo-sanitarnog priručnika 1986. godine pod poglavljem 3.1.2., daje preporuke za trgovinu životinjama i proizvodima od životinja u odnosu na bolest Aujeszkoga. Rezolucijom iz 2004. godine WOAH napušta prvobitnu podjelu bolesti životinja na listu A i listu B te se bolesti razvrstavaju ovisno o primjenljivim životinjama. Bolest Aujeszkoga je od 2004. godine na popisu bolesti životinja WOAH-a svrstana u bolesti više vrsta životinja.

U legislativu Europske unije bolest Aujeszkoga se uvodi Direktivom Vijeća 97/12/EZ od 17. ožujka 1997. o izmjeni i ažuriranju Direktive 64/432/EEZ o zdravstvenim problemima koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice (ANONIMUS, 1997.).

2.2. Etiologija

2.2.1. Klasifikacija i nazivlje

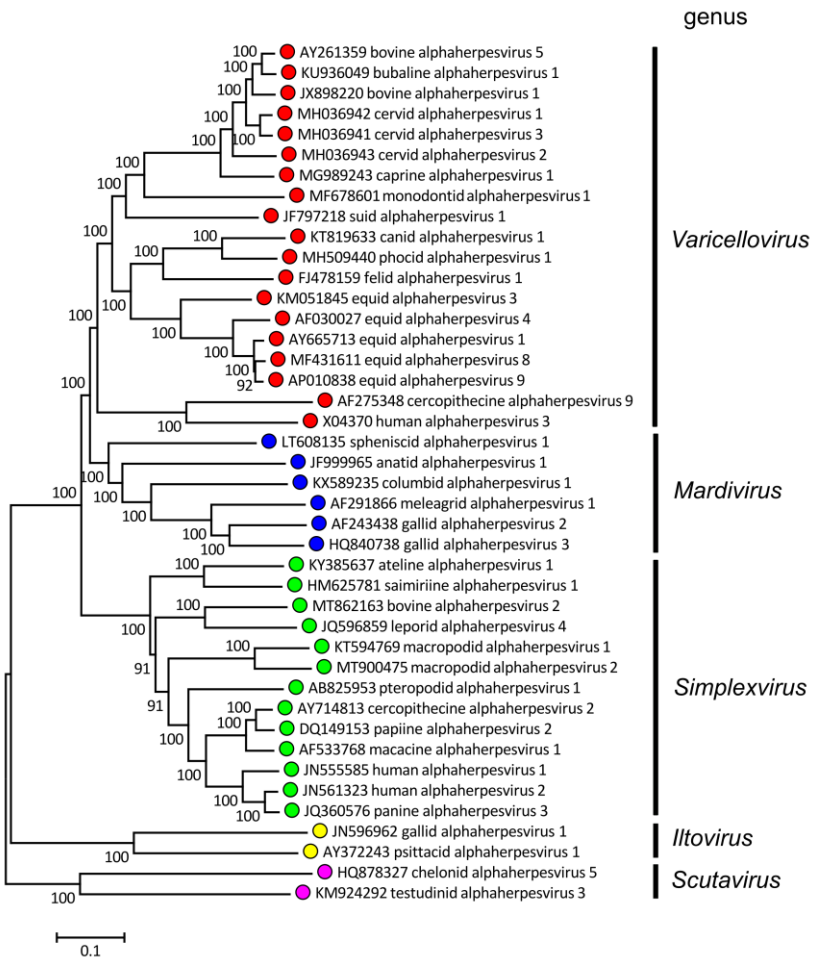
Bolest Aujeszkoga uzrokuje svinjski *alphaherpesvirus* 1 (skraćenice: SuAHV1; PRV) iz roda *Varicellovirus*, podporodice *Alphaherpesvirinae*, porodice *Herpesviridae*, kako je klasificiran prema klasifikaciji Međunarodnog odbora za taksonomiju virusa (International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV; Database issue https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=10345&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock) (LEFKOWITZ i sur., 2018.; GATHERER i sur., 2021.). U znanstvenoj i stručnoj literaturi koriste se još nazivi: Aujeszky virus, virus bolesti Aujeszkoga, svinjski herpesvirus 1 te pseudorabies virus. U ovom radu koristi se naziv: virus bolesti Aujeszkoga.

Porodica *Herpesviridae* dijeli se na tri potporodice *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* i *Gammaherpesvirinae*. Virusi iz porodice *Herpesviridae* uglavnom su podjednaki te se sastoje od sferičnog viriona s ovojnicom. Genom je linearna dvolančana DNK veličine od 125–241 kbp koja sadrži od 70 do 170 gena, od kojih njih 43 sadrže naslijeđeni zajednički gen od predaka herpesvirusa. Herpesvirusi su visoko prilagođeni svojim domaćinima, brojnim sisavcima, pticama i reptilima. Nakon primarne infekcije ovi virusi imaju sposobnost izazvati doživotnu latentnu infekciju. Teški klinički znakovi bolesti nakon infekcije herpesvirusima obično se razvijaju samo u vrlo mladih ili imuno kompromitiranih inficiranih jedinki, u fetusima ili u jedinki koje nisu prirodni domaćini virusa (GATHERER i sur., 2021.).

Potporodica *Alphaherpesvirinae* se dijeli na šest rodova, od kojih *Varicellovirus* sadrži 19 različitih vrsta virusa uključujući i *Suid alphaherpesvirus* 1 (SuAHV1, alternativno PRV), odnosno virus bolesti Aujeszkoga.

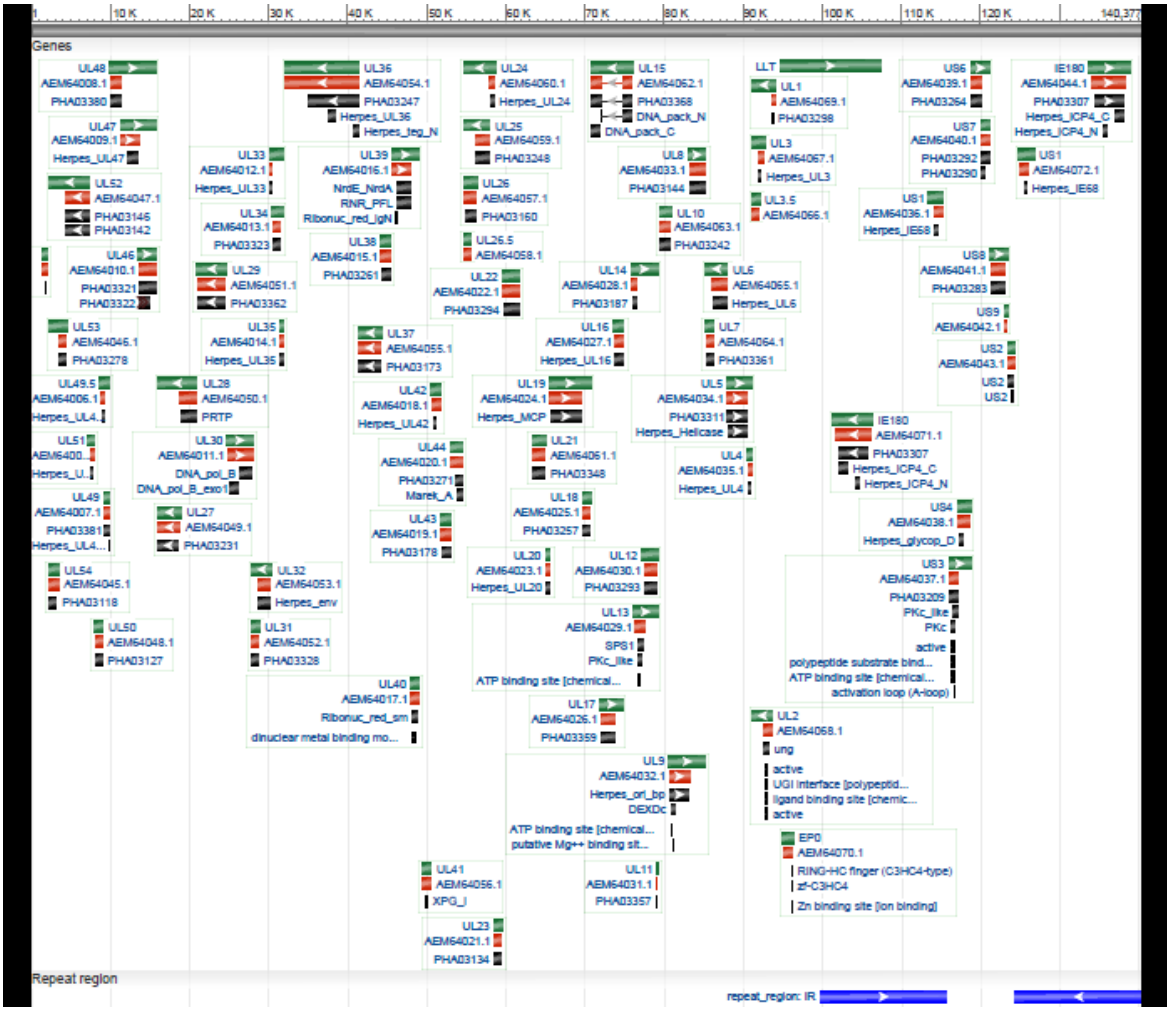
Alfaherpesvirusi imaju najširi raspon domaćina i tendenciju brzog umnažanja s citopatogenim učinkom. Virusne čestice mogu se replicirati već u nekoliko sati i mogu stvoriti latenciju u senzoričkim ganglijima živčanog sustava i limfoidnog tkiva tonzila (WHEELER i OSORIO, 1991.). Sve ove značajke posebno su izražene kod virusa bolesti Aujeszkoga (METTENLEITER, 2000.). Ljudi su domaćini tri alfaherpesvirusa: *varicella-zoster* te *herpes simplex* virusa tip 1 i tip 2. Usporedbom sekvenci homolognih proteina, utvrđeno je da je virus bolesti Aujeszkoga u najbližem srodstvu s goveđim herpesvirusom 1 (BHV-1), konjskim herpesvirusom 1 (EHV-1) i

varicella-zoster virusom. Stoga je unutar potporodice *Alphaherpesvirinae* svrstan u rod *Varicellovirus* (Slika 1.).



Slika 1. Filogenetska povezanost unutar potporodice *Alphaherpesvirinae*
Izvor: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsDNK-viruses/w/herpesviridae/1609/subfamily-alphaherpesvirinae

Kompletan genom virusa bolesti Aujeszkoga prikazan je na Slici 2.



Slika 2.Kompletan genom virusa bolesti Aujeszkoga
Izvor: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JF797218.1?report=graph

Četiri najraširenija klasična genotipa virusa bolesti Aujeszkoga uključuju sojeve tipa I (SAD, središnja Europa), II i III (središnja i sjeverna Europa) i tip IV (Azija). Peti genotip je varijanta virusa bolesti Aujeszkoga izolirana u Kini (XIA i sur., 2018.).

Nacionalni centar za informacije o biotehnologiji (National Center for Biotechnology Information – NCBI) razlikuje devet sojeva virusa bolesti Aujeszkoga (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=10345):

Pseudorabies virus Ea

Suid herpesvirus 1 soj Bartha

Suid herpesvirus 1 (soj Indiana-Funkhauser/Becker)

Suid herpesvirus 1 soj Kaplan

Suid herpesvirus 1 (soj NIA-3)

Suid herpesvirus 1 (soj Rice)

Suid herpesvirus 1 (soj TNL).

Unutar glavnih tipova genoma uz pomoć filogenetskih analiza sojeva izoliranih u različitim zemljama mogu se razlikovati podtipovi virusa bolesti Aujeszkoga (METTENLEITER i sur., 2019.).

Unatoč značajnoj sličnosti s ljudskim alfaherpesvirusima i širokim rasponom domaćina, virus bolesti Aujeszkoga ne prenosi se na ljude (POMERANZ i sur., 2005.). Postoje sporadični slučajevi bolesti u ljudi koji se dovode u vezu s virusom bolesti Aujeszkoga, no općenito se smatra da bolest Aujeszkoga nije zoonoza (EFSA, 2017.).

Virus bolesti Aujeszkoga je veličine od 150 do 180 nm u promjeru. Sastoji se od nukleokapside s ovojnicom koja okružuje lineranu dvolančanu molekulu DNK veličine oko 145 kb, odnosno 90 x 106 Da. Struktura virusa prikazana je na Slici 3. (POMERANZ i sur., 2005.).

ENQUIST (1999.) je u svojem radu opisao pokuse provedene na virusu bolesti Aujeszkoga kao virusu koji omogućuje proučavanje osnovnih znanja o virologiji i djelovanju virusa na molekularnoj razini. Virus bolesti Aujeszkoga prikladan je za istraživanja i dublja proučavanja mehanizma herpesvirusa zbog njegove infektivnosti za mnogo različitih vrsta životinja koja rezultira fatalnim encefalitisom te učinkovitoj primjeni živog atenuiranog cjepiva u kontroli ove bolesti. Upravo su ti cjepni sojevi koji sadrže mutacije koje dovode do smanjenja virulencije, a ipak imaju sposobnost infekcije i izazivanja imunosnog odgovora, zaintrigirali virologe i genetičare. U radu također opisuje kako je utvrđeno da u glodavaca atenuirani Bartha soj virusa bolesti Aujeszkoga može puno bolje poslužiti za proučavanje vezanja virusa na neurone u glodavaca nego bilo koji drugi proučavani terenski soj. U zaključcima rada ENQUIST (1999.) navodi da sojevi izdvojeni iz životinja mogu puno više ponuditi u smislu istraživanja i razumijevanja osnovnih mehanizama neurotropizma i virulencije alfaherpesvirusa te da se mora nastaviti s istraživanjima za koja vjeruje da će omogućiti nove spoznaje o genima odgovornima za patogenezu korištenjem novih tehnologija u mutagenezi i mutant konstrukciji poput BAC (bacterial artificial chromosome) tehnologije (WARDEN i sur., 2011.).

2.2.2. Genom

Genom obuhvaća približno 140-143 kpb i sadrži najmanje 72 otvorena okvira za čitanje (ORF) koji kodiraju 70 različitih proteina. Linearna dvolančana molekula sastavljena je od dvije komponente, L i S. Komponenta S sastoji se od kratke jedinstvene sekvence ograđene velikim obrnuto ponavljajućim sekvencama (velikim približno 107 Da). Tijekom rasta virusa opaža se visokofrekventna inverzija S komponente, ali ne i L komponente. S komponenta postoji u dva izomerična oblika. Završetci genoma virusa bolesti Aujeszkoga su jedinstveni i nije prisutna terminalna redundancija (DEMARCHI i sur., 1990.). Dvolančana DNK obavijena je zaštitnom kapsidom s kojom čini nukleokapsidu, proteinski matriks ili virusni tegument koji odvaja nukleokapsidu od vanjske lipoproteinske ovojnice izgrađene od 11 virusnih glikoproteina (gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM i gN), (POMERANZ i sur., 2005.) (Slika 3.). Kapsida je morfološki slična kapsidi drugih herpesvirusa te sadrži iste komponente: UL18 (dio tripleks strukture između kapsomera), UL19 (glavni protein koji tvori hekson i penton kapsomere), UL26 (skela, proteaza), UL26.5 (skela), UL35 (vrhovi heksona) i UL38 (tripleks) gene.

Tegument čini amorfnu strukturu između kapside i ovojnice. Ovojnica virusa bolesti Aujeszkoga nastala je od intrastaničnih membrana vezikula u trans-Golgijevoj mreži.

Ovojnica sadrži i virusno kodirane proteine, od kojih je većina modificirana dodatkom ugljikohidratnih lanaca te se nazivaju glikoproteinima. Do sada je opisano 11 glikoproteina koji su određeni prema jedinstvenoj nomenklaturi za herpesvirusne glikoproteine kao gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM i gN glikoproteini. Glikoprotein gB tvori homodimerni kompleks, dok su gE/gI, gH/gL i gM/gN heterooligomerni oblici (heterodimeri). Svi ovi glikoproteini su sastojci virusne ovojnice osim gG, koji se obilno proizvodi i otpušta u medij tijekom infekcije (METTENLEITER, 2000).

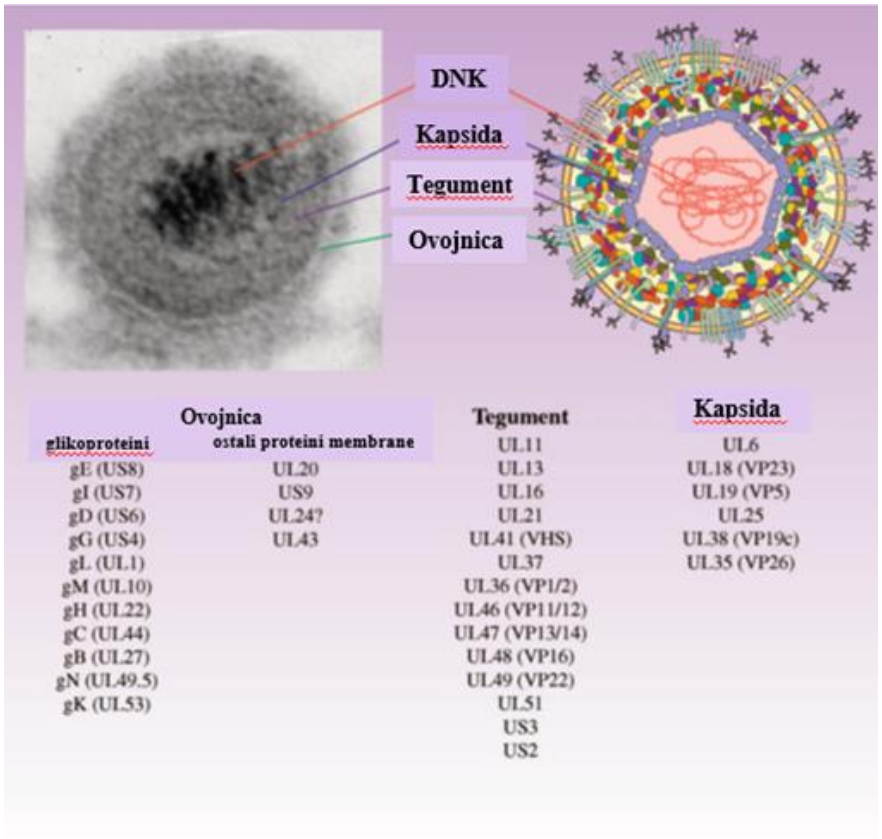
Esencijalni glikoproteini su gB gD, gH, gL i gK, dok se ostali smatraju neesencijalnim. Nekoliko nestrukturnih proteina kao timus kinaza (TK) i protein kinaza (PK) povezuju se s virulencijom no ta podskupina gena može se zamijeniti heterolognim genima bez da se mijenja infektivnost i umnažanje virusa pod uvjetom da esencijalni geni ostanu intaktni (DONG i sur., 2014.).

Skup od 40 gena herpes virusa je sačuvan među svim Alpha-, Beta- i Gama herpesvirusima. Oni su odgovorni za ulazak i izlazak virusa te njegovo širenje od stanice do stanice. Oni također moduliraju imunosni odgovor i potiču stvaranje sincicija. Tijekom ulaska u stanicu glikoproteini gC, gB, gD, gH i gL su odgovorni za vezanje viriona za staničnu površinu domaćina i kasniju fuziju

virusne ovojnice s membranom. Kao površinski sastojci viriona i inficiranih stanica, glikoproteini predstavljaju dominantne mete za imunosnu obranu domaćina (POMERANZ i sur., 2005.).

Virulencijom virusa bolesti Aujeszkoga sinergistički upravlja nekoliko gena od kojih se izdvajaju geni koji kodiraju glikoproteine gE, gD, gI i TK (WITTMANN i RZIHA, 1989,; KRITAS i sur., 1994.; KRITAS i sur., 1995.; MULDER i sur., 1997.). Glikoproteini gB, gC i gD najznačajniji su za stvaranje imunosnog odgovora (MARCHIOLI i sur., 1988.). Uklanjanje (delecija) jednog ili više glikoproteina gE, gC, gG i TK koristi se u izradi cjepiva protiv bolesti Aujeszkoga. Glikoprotein gE odgovoran je za neurovirulenciju (METTENLEITER, 2000.) te je delecija gena za gE korištena u razvoju cjepiva, tzv. marker vakcina, a pratećim serološkim protokolima je omogućeno razlikovati cijepljene od inficiranih svinja (FREULING i sur., 2017.).

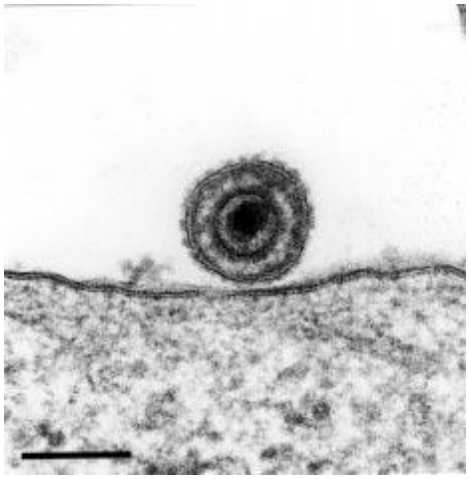
Za razlikovanje sojeva virusa bolesti Aujeszkoga koriste se biološki i fizički markeri, a cjepni i terenski sojevi virusa bolesti Aujeszkoga pouzdano se razlikuju korištenjem markera inaktivacije topline i tripsina u kombinaciji s markerima virulencije miša i kunića. Duljina fragmenta polimorfizma genoma također može poslužiti za razlikovanje sojeva virusa bolesti Aujeszkoga. Sve ove karakteristike su stabilne nakon više pasaža u svinja (PLATT, 1981.; MENGELING i sur., 1983.).



Slika 3.Struktura virusa bolesti Aujeszkoga
(POMERANZ i sur., 2005.)

2.2.3. Umnažanje virusa bolesti Aujeszkoga

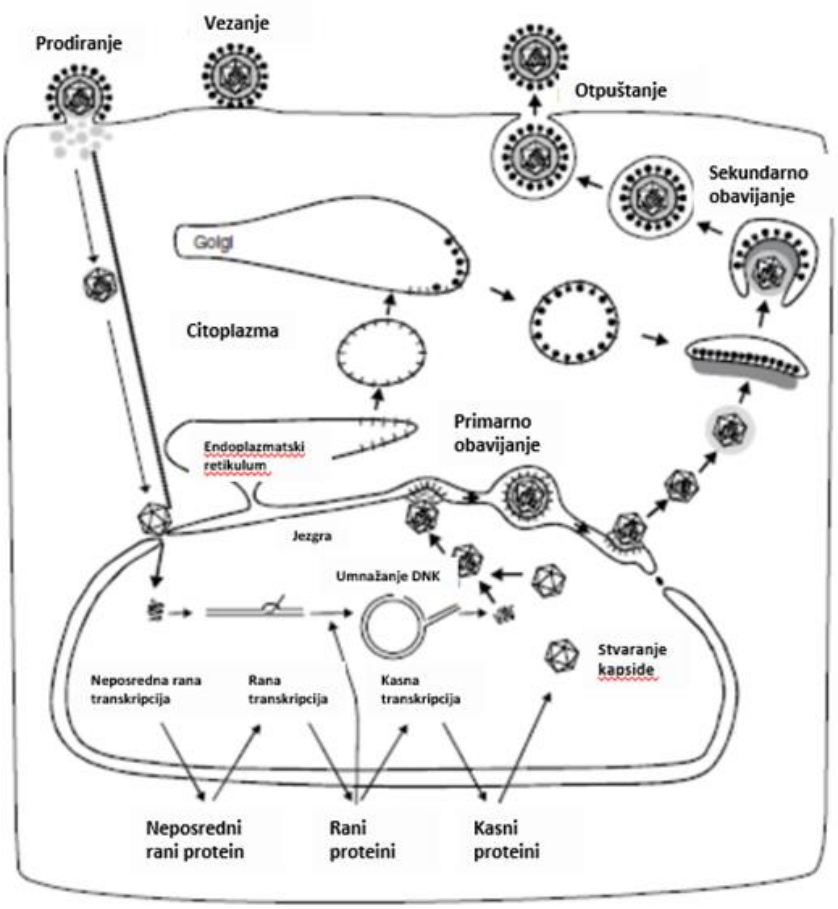
Infekcija stanica herpesvirusima započinje pripajanjem slobodnih viriona na ciljne stanice nakon čega dolazi do spajanja virusne ovojnice i stanične citoplazmatske membrane.



Slika 4. Virion virusa bolesti Aujeszkoga pripojen na stanicu stanične kulture goveđeg bubrega snimljen elektronskim mikroskopom (METTENLEITER, 2000.)

Glikoproteini gC i gD te dvije grupe staničnih receptora, heparan sulfat proteoglikani i protein srodan receptoru poliovirusa, uključeni su u pripajanje virusa bolesti Aujeszkoga na stanicu. Za ulazak virusa u stanicu stanična citoplazmatska membrana i virusna ovojnica moraju biti u bliskom kontaktu kako bi se spojile (KARGER i METTENELEITER, 1996.; SOZZI 2015.). Za proces spajanja potrebno je najmanje četiri glikoproteina gB, gH/gL, i gD. Ukoliko nedostaje bilo koji od ova četiri glikoproteina ne može doći do spajanja virusa sa stanicom. Glikoproteini gB, gH, i gL postoje u svim virusima iz porodice herpesvirusa. Nakon prelaska nukleokapside u citoplazmu stanice, ona zatim prelazi u jezgrinu membranu i locira se uz pore jezgre. Ovaj prijenos najvjerojatnije se odvija putem mikrotubula. Kapsida je uvijek orijentirana prema pori jezgre tako da je jedan vrh nasuprot kompleksu pora. DNK vjerojatno tako napušta virion i kroz vrh ulazi u jezgru. Nakon ulaska u stanicu DNK cirkulira te počinje kaskadnu transkripciju u jezgri sljedećim redom: trenutna-rana, rana i na kraju kasna ekspresija gena (METTENLEITER i sur., 2019.). Na početku su izraženi trenutni-rani (immediate-early) geni koji kodiraju regulatorne proteine, a za razliku od većine drugih herpesvirusa, virus bolesti Aujeszkoga sadrži samo jedan takav gen koji kodira protein koji aktivria virusnu transkripciju IE180 (POMERANZ i sur., 2005.). IE180 je moćan transaktivator ranih gena potrebnih za replikaciju DNK i enzimske funkcije. Rani geni su izraženi prije same DNK replikacije. Daljnje umnažanje odvija se u kružnim ciklusima, a kasni geni tvore komponente kapside i ovojnice, primjerice gC (METTENLEITER, 2000.) Nakon sinteze u citoplazmi, proteini kapside ulaze u jezgru i čine osnovu za stvaranje kapside. Kapsida

napušta jezgru pupanjem kroz unutrašnju jezgrinu membranu. Pod elektronskim mikroskopom vidi se da je virusna ovojnica glatka bez zrelih glikoproteina. Također, perinuklearni prostor sadrži vrlo malo tegumenta ili ga uopće nema. Virioni napuštaju perinuklearni prostor spajanjem primarne ovojnice s vanjskom jezgrinom membranom što rezultira otpuštanjem gole kapside u citoplazmu. Daljni proces odvija se u trans-Golgijevoj mreži gdje kapside pupaju u lamele i vezikule trans-Golgija. U toj fazi postaje vidljiv i tegument, a sekundarna ovojnica sadrži virusne glikoproteine. To pupanje omogućuje stvaranje potpunih virusnih čestica unutar vezikule. Vezikule prelaze u citoplazmatsku membranu, spajaju se s njom i otpuštaju virusne čestice u ekstrastanični prostor (METTENLEITER, 2000.). Ciklus umnažanja virusa bolesti Aujeszkoga prikazan je na Slici 5.



Slika 5. Ciklus umnažanja virusa bolesti Aujeszkoga
(METTENLEITER, 2019.)

2.2.4. Latentnost

Poznato je da je jedna od glavnih karakteristika herpesvirusa njihova latentnost, odnosno sposobnost da nakon akutne infekcije, životinje ostaju trajno zaražene, a izlučivanje virusa reaktivira se ovisno o raznim čimbenicima, uglavnom nakon stresa. Latentnost se definira kao stanje u kojem virusna DNK perzistira, odnosno miruje i ne proizvodi infektivni virus. Tijekom latencije izlučivanje virusnih gena ograničeno je na prepisivanje samo određenog dijela genoma u isječke povezane s latencijom no detaljna molekularna osnova za latentnost alfaherpesvirusa još uvijek je nerazjašnjena (METTENLEITER, 2000.). Glavna mjesta latencije virusa bolesti Aujeszkoga su trigeminalni gangliji, olfaktorni bulbus i tonzile. U ovim organima virusna DNK može se detektirati i kada nema stvaranja infektivnog virusa, a isječak odgovoran za latentnost može se također dokazati visoko osjetljivim metodama poput lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu ili lančanom rekacijom polimeraze s prethodnim prepisivanjem (engl. real time polymerase chain reaction). Pretpostavlja se da se nakon oronazalne infekcije virus bolesti Aujeszkoga prvo umnaža u epitelnom tkivu te može ući izravno u završetke osjetilnih neurona nazofarinksa. Nakon tog prvog umnožavanja, virus se obilno umnaža te tako dolazi do pojačane infekcije primarnih neurona (METTENLEITER, 2000.).

Jedan od ključnih proteina za neuroinvazivnost virus bolesti Aujeszkoga je gE te se njegovim uklanjanjem snažno oslabljuje (atenuira) virus, dok sposobnost njegovog primarnog umnažanja ostaje sačuvana. Uklanjanje gE utječe na inhibiciju transinaptičkog prijenosa u druge neurone čime se u biti smanjuje njegova neuroinvazivnost (METTENLEITER, 2000.).

2.3. Tenacitet

Virus bolesti Aujeszkoga otporan je na vanjske uvjete što u mnogome ovisi o razini pH, vlažnosti i temperaturi. U laboratorijskim uvjetima isušivanje, kao i izlaganje UV svjetlu, inaktivira virus neovisno o razini pH te se može zaključiti da sunčeva svjetlost utječe na kraće preživljavanje virusa bolesti Aujeszkoga u prirodnim uvjetima (DAVIES i BERAN, 1981.) no za inaktivaciju virusa potrebno je izravno izlaganje sunčevoj svjetolosti (GONG i sur., 2020.). Zrenje svinjskog mesa ne inaktivira virus pri temperaturi od 4°C, ali se pri temperaturi od -18°C virus inaktivira unutar 40 dana. Toplinska obrada mesa, kobasica i šunke na temperaturi od 80°C uništava virus bolesti Aujeszkoga. U gnojevki virus može preživjeti kroz mjesec dana ljeti te dva mjeseca zimi, dok u tlu može opstati kroz pet do šest tjedana. Na sijenu i slami može se zadržati 15 dana ljeti te 40 dana

zimi, a na drugim površinama (vreće, drvene površine) može opstati 10 dana ljeti i 15 dana zimi (EFSA, 2017.). Zagrijavanje kuhinjskog otpada na temperaturi od 70°C uništava virus za 10 minuta, odnosno za 5 minuta na temperaturi od 80°C (WITTMANN, 1991.). Inaktivacija virusa bolesti Aujeszkoga u aerosolu ovisi o temperaturi i relativnoj vlažnosti, a uglavnom se oko 50% virusa uništi unutar 24 sata (SCHOENBAUM i sur., 1990.).

Virus bolesti Aujeszkoga osjetljiv je na dezinficijense na bazi ortofenolfenatnih spojeva, peroctene kiseline, formalina, 2% natrijevog hidroksida, trinatrijevog fosfat jodida, 1-2% kvarternih amonijevih spojeva, hipoklorita i klora (klorheksidin) (BERAN, 1991.), a učinkovitost dezinfekcije je nešto manja u prisutnosti organskog materijala na površini na kojoj se primjenjuje. U praktičnoj primjeni prikladni su preparati kalcijevog klorida otopljeni u vodi i pripravci koji sadrže najmanje 1% aktivnog formaldehida, dok se za dezinfekciju gnojevke može koristiti vapno (20 kg Ca $(OH)_2$/m3) (METTENLEITER i sur., 2019.).

Budući je virus bolesti Aujeszkoga relativno otporan na promjene pH u rasponu od 4 do 12, čisti kiselinski i lužnati pripravci mogu se koristiti samo kao dezinficijensi u ograničenoj mjeri. Isto vrijedi i za dezinficijense na bazi fenola i alkohola (BLAHA, 1989.).

2.4. Epizootiologija bolesti Aujeszkoga

Virus bolesti Aujeszkoga proširen je u gotovo cijelom svijetu. Bolest se javlja u populaciji svinja, domaćih i divljih, a sporadično i u drugih vrsta životinja, najčešće mesojeda i preživača. Postoje brojni dokazi potvrde virusa u divljih životinja, posebice u divljih svinja koje se smatraju glavnim rezervoarom virusa, čija je cirkulacija u divljih svinja također potvrđena i u Hrvatskoj (KEROS i sur., 2014.). Svinje (*Sus scrofa*) su jedini prirodni domaćini virusa bolesti Aujeszkoga i smatraju se rezervoarom ovog virusa (METTENLEITER i sur., 2019.). U svinja se najčešće ne manifestiraju klinički znakovi, osim u mlađih dobnih skupina i novorođene prasadi, ali svinje nakon preboljenja ostaju trajno zaražene i mogu povremeno izlučivati virus. Upravo je ta sposobnost latencije virusa bolesti Aujeszkoga u naizgled zdravih svinja razlog dugotrajnog opstanka virusa u populaciji, posebno u populaciji divljih svinja koje mogu predstavljati trajni izvor ponovne zaraze domaćih svinja. U zemljama s razvijenom intenzivnom svinjogojskom proizvodnjom, bolest Aujeszkoga je tijekom druge polovice dvadesetog stoljeća uspješno stavljena pod kontrolu provedbom iskorjenjivanja, uglavnom u kombinaciji sa strategijom cijepljenja.

U posljednjih desetak godina pojava bolesti Aujeszkoga u intenzivnim uzgojima domaćih svinja u Kini povezuje se sa širenjem nove varijante virusa bolesti Aujeszkoga i to u cijepljenoj populaciji svinja (XIA i sur., 2018.).

Manifestacija znakova bolesti Aujeszkoga u zaraženih svinja ovisi o više čimbenika, kategoriji i broju svinja, njihovom imunosnom statusu i načinu držanja.

Ovisno o dobi svinja i virulenciji samog virusa, inkubacija varira od 1 do 8 dana pa do tri tjedna. U mlađih dobnih kategorija svinja (sisajuće prasadi) inkubacija je kraća, oko 2 do 4 dana, dok se kod starijih svinja prvi znakovi javljaju kroz 3 do 6 dana. Svinje uglavnom prebole infekciju i iako ne pokazuju nikakve znakove bolesti, ostaju trajno zaražene zbog sposobnosti latencije virusa. Ponovno izlučivanje virusa može se javiti nakon izlaganja stresu (POMERANZ i sur., 2005.), poput primjerice, transporta, loših uvjeta držanja i narušene dobrobiti zbog prevelikog broja svinja u objektu ili uslijed druge manipulacije svinjama koja može izazvati imunosupresivni učinak u latentno zaraženih svinja. Reaktivacija te ponovno izlučivanje virusa može se javiti nakon nekoliko mjeseci pa čak i nekoliko godina nakon infekcije (SMID i sur., 1994.).

Virusom bolesti Aujeszkoga mogu se inficirati gotovo svi sisavci, osim viših primata. Životinje se uglavnom zaraze izravnim kontaktom sa zaraženim svinjama ili jedenjem sirovog mesa i otpada podrijetlom od zaraženih svinja. Tako zaražene životinje ubrzo razviju vrlo izraženi, jaki svrbež te uginu kroz dva dana (LAVAL i ENQUIST, 2020.). Zbog takvog ishoda, druge zaražene životinje nisu značajne za širenje bolesti Aujeszkoga te se smatraju konačnim domaćinom (engl. dead end host) (SPICKLER, 2017.). Morbiditet i mortalitet u drugih vrsta životinja je 100% (EFSA, 2017.).

Prijemljivost svinja na virus bolesti Aujeszkoga ovisi o više čimbenika koji uključuju virulenciju soja, dozu izloženosti, put ulaska virusa i dob svinje. Prasad je puno osjetljivija od odraslih svinja (EFSA, 2017.).

Morbiditet u prasadi je gotovo 100%, dok mortalitet varira ovisno o dobi svinja i to od skoro 100% u sisajuće prasadi stare do sedam dana te do 50% u starije prasadi (3 do 6 tjedana starosti) (METTENLEITER i sur., 2019.). U odraslih svinja mortalitet može biti i oko 10% u uzgojima s lošim higijenskim uvjetima u kojima su češće i sekundarne bakterijske infekcije (POL i LE POTIER, 2011.).

U neimunoj populaciji svinja, prevalencija unutar samog uzgoja ovisi o više čimbenika, poput strukture stada/uzgoja, načina držanja, gustoće svinja u objektu, udaljenosti između objekata i biosigurnosnim mjerama. U nekim studijama utvrđeno je da je u uzgoju s malim brojem svinja

prevalencija obično ispod 20% dok u velikim uzgojima, i rasplodnim i tovnim, prevalencija može biti i od 60% do 100% (VANNIER, 1989.). U studiji LOPEZ-SORIAE i sur. (2009.) utvrđena je medijana prevalencija unutar uzgoja od 37% i 100% u krmača i tovljenika.

Bolest Aujeszkoga se ne smatra zoonozom iako postoje sporadični slučajevi u ljudi u kojih su pronađena neutralizacijska protutijela na virus bolesti Aujeszkoga (MRAVAK i sur., 1987.; SKINNER i sur., 2001.). Unatoč ovim spoznajama, u posljednje vrijeme u Kini su opisani klinički slučajevi endoftalmitisa i encefalitisa u ljudi. Anamnestički je utvrđeno da su oboljeli ljudi bili u vrlo bliskom kontaktu sa svinjama, bilo kao radnici u mesnoj industriji ili na farmi svinja. U ljudi je metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) dokazan virus, ali su virus netralizacijskim testom dokazana i specifična neutralizacijska protutijela (AI i sur., 2018.; ZHAO i sur., 2018.; WONG i sur, 2019.; FAN i sur., 2020.). Bez obzira na ove sporadične slučajeve u ljudi opće je prihvaćena spoznaja da ljudi nisu prijemljivi na bolest Aujeszkoga (METTENLEITER i sur., 2012.).

2.4.1. Širenje bolesti Aujeszkoga

Bolest Aujeszkoga širi se izravnim kontaktom sa zaraženom životinjom ili neizravnim kontaktom s kontaminiranim predmetima, zrakom (aerosol) (VANNIER, 1989.), hranom (STOIAN i sur., 2020.), steljom ili površinama kontaminiranim zaraženim izlučevinama (LI i sur., 2020.). Virus bolesti Aujeszkoga izlučuje se slinom, nosnim iscjetkom, urinom, fecesom, vaginalnim sekretom i sjemenom svinja, a na sisajuću prasad se može prenijeti i kolostrumom zaražene krmače (BERAN, 1991.). Virus bolesti Aujeszkoga ulazi u organizam horizontalno preko sluznice usta i nosa (oronazalno) (HAHN i sur., 1997.), spolnim putem tijekom pripusta ili umjetnog osjemenjivanja (VAN RIJN i sur., 2004.) te vertikalnim putem transplacentalno. U uzgoje svinja bolest Aujeszkoga najčešće ulazi uvođenjem zaražene životinje gdje se brzo širi unutar neimune populacije. Prijenos virusa zrakom ovisi o infektivnosti aerosola (količini virusa) i klimatološkim čimbenicima (GRANT i sur., 1994.; GILLESPIE i HILL, 1996.; CASAL i sur., 1997.) U područjima s velikom gustoćom svinja (više od 0,8 uzgoja po hektaru) opisan je prijenos virusa bolesti Aujeszkoga zrakom i do 70 km (CHRISTENSEN i sur., 1990.; DONALDSON i sur., 1983.) što je primjerice uzrokovalo širenje bolesti Aujeszkoga iz zaraženih njemačkih uzgoja na danske uzgoje. Ovakvo širenje može se objasniti zbog velike količine virusa koji se širi zrakom zbog istovremene zaraze velikog broja svinja u gusto naseljenim područjima (EFSA, 2017.).

Ne postoje dokazi da insekti imaju ulogu vektora u širenju bolesti Aujeszkoga.

2.4.2. Patogeneza, klinička slika i patoanatomske promjene

Primarna infekcija odvija se u gornjem dišnom traktu nakon što virus bolesti Aujeszkoga uđe u tijelo svinje preko sluznice oka i nosa. U nosnom septumu, tonzilama, nazofarinksu, dušniku i plućima izaziva infekciju epitelnih stanica što uzorkuje uništavanje i eroziju epitela. U toj fazi infekcija se manifestira blagim znakovima od strane dišnog sustava, kao što su kihanje, kašalj, otežano disanje i nosni iscjedak. Ovi se znakovi javljaju tri do šest dana od infekcije i mogu trajati do desetak dana. Zaražene svinje uglavnom se vrlo brzo oporave, osim ukoliko zbog sekundarnih bakterijskih infekcija ne razviju upalu pluća. Izlučivanje virusa počinje 1-2 dana nakon infekcije, prije početka viremije i kliničkih znakova, dostižući vrhunac 2–5 dana nakon infekcije i traje do 17 dana nakon infekcije (METTENLEITER i sur., 2012.). LAVAL i ENQUIST (2020.) su u svojem radu opisali patogenezu i kliničku sliku bolesti Aujeszkoga s naglaskom na pojavu neuropatskog svrbeža u svinja i drugih životinja. Prikupljeni su podaci o 26 različitih slučajeva diljem svijeta u razdoblju od 2004. do 2018. godine u kojih je zabilježen svrbež te je osim opisa kliničke dat i pregled novijih znanstvenih istraživanja o patogenezi virusa bolesti Aujeszkoga i njegovom učinku na živčani sustav. Tako su opisali da ulazak virusa u druge prijemljive životinje koje nisu njegovi prirodni domaćini u većini slučajeva uzrokuje svrbež na području glave i vrata što također sugerira da virus u njih uglavnom ulazi putem gornjeg dišnog trakta. Tako zaražene životinje mogu izlučivati virus nosnim sekretom no to traje vrlo kratko jer zaražene životinje ubrzo ugibaju. Nakon primarnog umnožavanja virusa u epitelu nosa odrasle svinje, virus ulazi u završetke živaca perifernog živčanog sustava, uključujući neurone trigeminalnog ganglija i olfaktornog bulbusa kao i neurone drugih živaca, facijalnih, parasimpatičkih i simpatičkih, koji inerviraju nosnu sluznicu. Virus dalje putuje retrogradno prema senzoričkim i autonomnim perifernim ganglijima. U živcima prirodnog domaćina virus bolesti Aujeszkoga stvara latentnu infekciju (YOON i sur., 2006.) svojstvenu svim herpesvirusima. Za to vrijeme svinje se oporave od infekcije dišnog sustava i postaju asimptomatske. Ukoliko dođe do reaktivacije virusa nakon stresa, virus se umnaža u ganglijima perifernog živčanog sustava te se virioni šire anterogradno putem živaca prema površini sluznice od kuda je infekcija krenula. Kao i kod primarne infekcije, svinje mogu pokazivati blage znakove bolesti od strane dišnog sustava. Virus bolesti Aujeszkoga rijetko se širi obrnutim putem prema središnjem živčanom sustavu no ukoliko dođe do takvog širenja dolazi do encefalitisa.

Ciklusi latencije i reaktivacije virusa u svinja rezultiraju širenjem infekcije i prenošenjem virusa na druge, nezaražene životinje i zadržavanja virusa u uzgoju. U drugih neprirodnih domaćina, virus na sličan način ulazi u završetke živaca i započinju produktivnu infekciju neurona perifernog živčanog sustava. Prisutnost infektivnog virusa bolesti Aujeszkoga sugerira aktivno umnažanje virusa u neuronima perifernog živčanog sustava što se javlja istovremeno s pojavom svrbeža u zaraženih životinja (LAVAL i ENQUIST, 2020.).

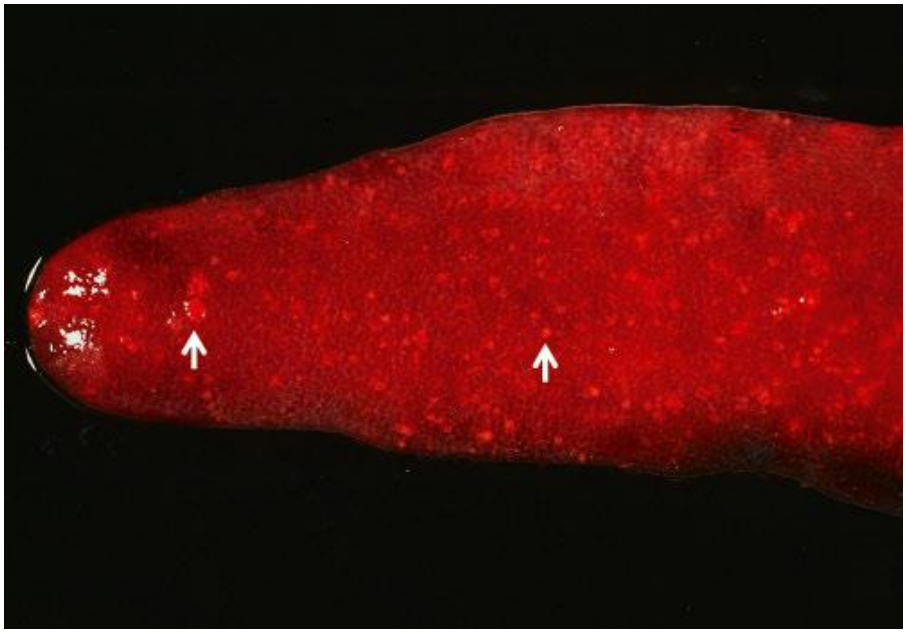
Latencija virusa u neuronima nije dokazana u drugih životinja budući one vrlo brzo ugibaju no WHEELER i OSORIO (1991.) su u svojoj studiji objavili je da je dokazana latencija u trigeminalnom gangliju nakon pasivne imunizacije miša prije inokulacije oslabljenog virusa bolesti Aujeszkoga (Bartha soj) te su uspjeli dokazati infektivni virus bolesti Aujeszkoga i DNK virusa u latentno zaraženog miša pomoću metoda PCR i in situ hibridizacije nakon 2 do 8 mjeseci od inokulacije. Do danas nema studija koje bi dokazale stvaranje latencije u drugih životinja nakon infekcije virulentnim virusom bolesti Aujeszkoga koji uzrokuje svrbež (LAVAL i ENQUIST, 2020.). LAVAL i ENQUIST (2020.) u svojem radu utvrdili su da se nakon umnažanja virusa u perifernom živčanom sustavu virioni mogu širiti retrogradno prema središnjem živčanom sustavu ukoliko životinja poživi dovoljno dugo. Ukoliko dođe do umnažanja virusa u središnjem živčanom sustavu, dolazi do upale mozga. Zanimljivo je da se virus rijetko dokazao u srednjem i malom mozgu, najvjerojatnije zbog kratkog života zaražene životinje. Takvi nalazi upućuju na to da znatno umnažanje virusa u mozgu nije uzrok uginuća životinje. U svinja se virus može umnožavati i u limfnom sustavu te može cirkulirati u krvi. Ova sposobnost virusa da prođe bazalnu membranu epitela putem lamine proprije potpomognuta je aktivnošću enzima tripsin serin proteaze te se kroz 24-48 sati nakon infekcije, infektivni virus bolesti Aujeszkoga može se dokazati u ingvinalnim limfnim čvorovima svinje. U farinegealnim limfnim čvorovima virus bolesti Aujeszkoga može se dokazati do 35 dana nakon infekcije. Iz limfnih čvorova izlaze inficirani leukociti putem limfe i ulaze u cirkulaciju krvi. To rezultira viremijom u perifernim mononuklearnim stanicama krvi, uglavnom u monocitima što omogućuje njegovo daljnje širenje u domaćinu. Viremija se može dokazati već jedan dan nakon infekcije i može trajati do dva tjedna. Virus bolesti Aujeszkoga u limfnim čvorovima drugih životinja dokazan je u nekoliko istraživanja tek nakon eksperimentalne infekcije. Virus je potvrđen u goveda, dok u eksperimentalno inficiranih pasa nije. Na osnovi takvih studija te s obzirom da se u prirodno zaraženih životinja virus bolesti Aujeszkoga nije dokazao u limfnim čvorovima niti u krvi, viremija drugih vrsta životinja nije vjerojatna. Viremija omogućuje

i širenje virusa unutar gravidne maternice. Zaraženi monociti lijepe se na endotelne stanice krvnih žila posteljice gdje dolazi do sekundarnog umnožavanja virusa. Umnažanje virusa u posteljici uzrokuje vaskulitis i multifokalne tromboze što rezultira pobačajem. Širenje infekcije endotelnih stanica može prouzročiti odvajanje fetalne membrane tijekom prvog tromjesečja graviditeta što dovodi do pobačaja fetusa bez njihove infekcije ili dolazi do fetalne reapsorpcije. Ukoliko infekcija nije dovoljno jaka da izazove odvajanje fetalne membrane, dolazi do transplacentarne infekcije te pobačaja zaraženih fetusa tijekom drugog i trećeg tromjesečja graviditeta ili do preuranjenog poroda. U zaraženih fetusa mogu se naći lezije organa kao nekroze u jetri, plućima i slezeni. Virus bolesti Aujeszkoga izoliran je iz jetre, slezene, pluća, tjelesnih tekućina i mozga pobačenih fetusa gravidnih cijepljenih krmača.

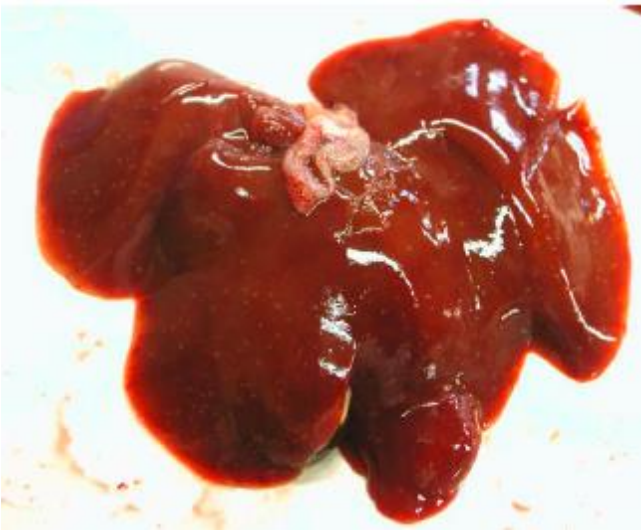
LAVAL i ENQUIST (2020.) zaključuju da do danas pobačaji nisu opisani u goveda, pasa ili drugih vrsta životinja, budući sekundarno umnažanje virusa nije vjerojatno zbog izostanka viremije. U novorođene, sisajuće i odbijene prasadi infekcija virusom bolesti Aujeszkoga je mnogo teža nego u odraslih svinja. U novorođene prasadi može se javiti naglo uginuće bez uočljivih znakova bolesti. Sisajuća prasad ugiba nakon prethodno uočljivih znakova bolesti poput groznice, povraćanja, slabosti stražnjih ekstremiteta, konvulzija, nekoordiniranosti i paralize. Mortalitet je u tako mladih životinja gotovo 100%. U odbijene prasadi mogu se javiti slični znakovi kao i u sisajuće prasadi uz znakove od strane dišnog sustava, poput otežanog disanja, kihanja, kašlja i nosnog iscjetka. Mortalitet u ove dobne kategorije svinja je od 5 do 10%. Pojava svrbeža nije uočena u svinja bez obzira na dob. U svojem zaključku LAVAL i ENQUIST (2020.) navode da je pojava neuropatskog svrbeža u drugih vrsta životinja proučavana u skorije vrijeme te su provedena istraživanja u miševa. Model eksperimentalne zaraze miševa virusom bolesti Aujeszkoga te proučavanje patogeneze i pojave svrbeža nakon infekcije može biti prikladan za proučavanje infekcije drugim herpesvirusima kako bi se istražile mogućnosti novih strategija liječenja ljudi te proučile periferne neuropatije poput multiple skleroze i drugih virusnih oštećenja perifernog živčanog sustava te drugih neurodegenerativnih procesa.

Patoanatomske promjene u svinja su uglavnom minimalne, a mogu se javiti upalne i kongestivne promjene u respiratornom, probavnom i reproduktivnom sustavu te limfatičkim tkivima. U uginule sisajuće prasadi javljaju se mnogobrojne fokalne nekrotične lezije u promjeru veličine 1-3 mm, u mozgu, plućima (Slika 6.), slezeni (Slika 7.), jetri (Slika 8.), crijevima i posteljici, karakteristične za alfaherpesvirusne infekcije (SOZZI, 2015.; METTENLEITER i sur. 2019.).

Slika 6. Fokalne nekrotične lezije u plućima
(SOZZI 2015.)



Slika 7. Multifokalne koagulativne nekroze parenhima slezene
(METTENLEITER i sur., 2019.)



Slika 8. Bijele točkaste promjene po jetri
(SOZZI, 2015.)

Eksudativni keratokonjuktivitis, serozni do fibrinozni rinitis (Slika 9.), laringitis, traheitis i nekrotični tonzilitis također mogu biti prisutni. Na mozgu se ne vide makroskopske lezije, osim leptomeningealne hiperemije. Makroskopske lezije u gornjem dišnom sustavu su najčešće, uključujući rinitis koji može biti i nekrotični (Slika 10.), a javljaju se i epitelne nekroze, nekrotični laringotraheitis često s multifokalnim nekrozama tonzila. Lezije u donjem dišnom sustavu mogu uključivati plućni edem, multifokalne nekroze, krvarenja ili bronhointersticijsku pneumoniju (METTENLEITER i sur., 2019.). U krmača se javlja nekrotični placentitis i endometritis, a stanjena i edematozna stjenka maternice uočena je nakon pobačaja (KLUGE i MARÉ, 1978.). Pobačeni fetusi mogu biti macerirani, ponekad i mumificirani.

Slika 9. Prase s rinitisom i konjunktivitisom uzrokovano virusom bolesti Aujeszkoga
Izvor: Janet Owen, https://www.cabi.org/isc/datasheet/92832#topathology

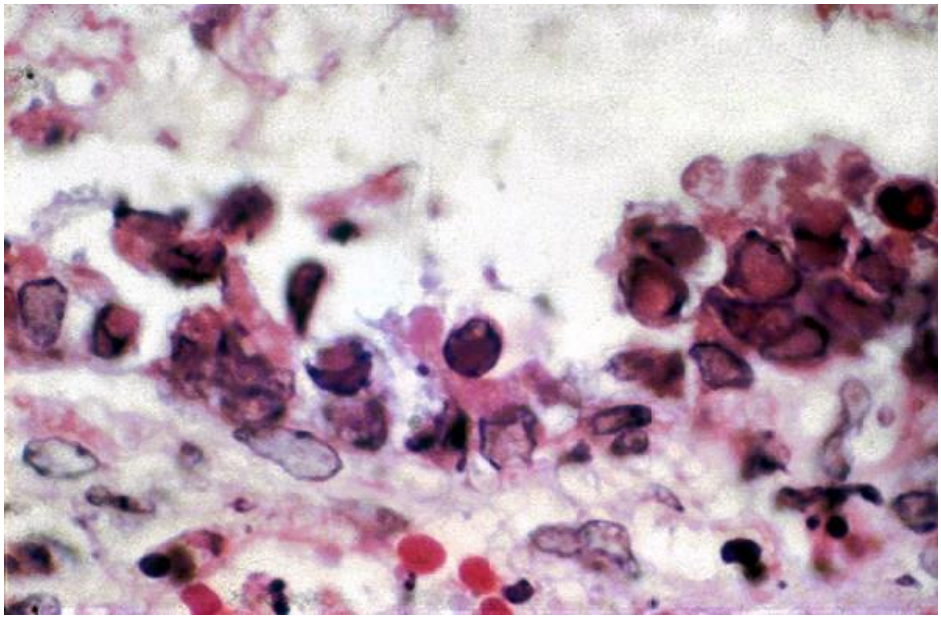
Slika 10. Nekroza nosa izazvana virusom bolesti Aujeszkoga
Izvor: Janet Owen, https://www.cabi.org/isc/datasheet/92832#topathology

Mikroskopske lezije javljaju se uslijed epiteliotropnih i neuroinvazivnih značajki virusa bolesti Aujeszkoga (METTENLEITER i sur., 2019.). METTENLEITER i sur. (2019.) navode da se lezije u središnjem živčanom sustavu manifestraju kao negnojni meningoencefalomijeltis u sivoj i bijeloj tvari i kao ganglioneuritis trigeminalnog te paraverterbralnih ganglija. Ove lezije javljaju se

ukoliko životinja živi dulje, a u mlade prasadi razvije se panencefalitis sa najvećim lezijama u kori mozga, moždanom deblu te spinalnim i bazalnim ganglijima mozga. Epitelne lezije sastoje se od multifokalnih područja koagulacijskih ili litičkih nekroza u jetri, tonzilama, plućima, slezeni, posteljici i nadbubrežnoj žlijezdi s amfofilnim intranuklearnim inkluzijama. Prema METTENLEITERU i sur. (2019.) virusne intranuklearne uklopine uglavnom se uočavaju izvan živčanog sustava. Vidljive su u epitelnim stanicama tonzila uz nekrotična žarišta u epitelu dišnog sustava i u stanicama u alveolarnom prostoru. Specifičnost ovih lezija ipak je potrebno potvrditi imunohistokemijskim pretragama. Nekroze se javljaju i u epitelu sluznice gornjeg dišnog sustava te u plućima, bronhima, bronhiolama (Slika 11.) i penumocitima. Alveolarni edem i stanična inflitracija mogu biti multifokalne ili difuzne. Limfociti, makrofagi te rjeđe plazma stanice i neutrofili javljaju se kao upalne stanice.

U maternici se nalazi multifkoalni do difuzni limfocistični endometritis, a može se uočiti i vaginitis, nekrotični placentitis i koagulativne nekroze u koriona (KLUGE i sur., 1999.).

U nerasta s eksudativnim periorhitisom javljaju se nekrotične i upalne lezije seroze gentalnih organa, a mogu se javiti i abnormalnosti spermatozoa. Žarišne nekroze mukoznog epitela javljaju se u crijevima. Pojava krvarenja i eksudacije fibrina proizlazi iz zahvaćanja vezivnog tkiva i endotela (METTENLEITER i sur. 2019.). U prasadi je uočen nekrotizirajući vaskulitis arteriola, venula te limfnih žila oko tonzila i submaksilarnih limfnih čvorova. Jezgre endotelnih stanica su piknotične i kariorektične, a stijenke krvnih žila su inflitrirane neutrofilima. U zahvaćenim endotelnim stanicama često su prisutne intranuklearne uklopine (KLUGE i sur., 1999.).



Slika 11. Bronhiolarne nekroze i inkulzije broniholarnih stanica
Izvor: Stan H. Done, https://www.cabi.org/isc/datasheet/92832#topathology

2.5. Dijagnostika bolesti Aujeszkoga

Klinički se sumnja na bolest Aujeszkoga postavlja u slučaju pojave respiratornih, nervnih i probavnih smetnji u prasadi te respiratornih i reproduktivnih smetnji (pobačaja, mrtvorođena prasad) u odraslih svinja.

Diferencijalno dijagnostički znakovi nalik bolesti Aujeszkoga javljaju se i u drugih virusnih bolesti svinja, kao na primjer klasične i afričke svinjske kuge, bjesnoće, respiratornog i reprodukcijskog sindroma svinja, cirkovirusne infekcije, influence svinja, encefalitisa, u bolesti uzorkovanih bakterijskim infekcijama, pri trovanju živom ili arsenom te hipoglikemiji (METTENLEITER i sur., 2019.).

U drugih vrsta životinja živčani simptomi dominiraju te se diferencijalno dijagnostički treba isključiti bjesnoća, u ovaca grebež, u goveda goveđa spongiformna encefalopatija te u svih drugih vrsta životinja bilo koji drugi uzroci svrbeža. Zbog činjenice da na osnovu kliničkih znakova bolesti niti patoanatomske pretrage nije moguće razlikovati bolest Aujeszkoga od drugih bolesti svinja, za sigurnu dijagnozu potrebno je uzeti odgovarajuće uzorke u svrhu laboratorijske dijagnostike.

Za dokazivanje virusa bolesti Aujeszkoga u životinja s kliničkom slikom, koriste se metode izolacije virusa i otkrivanja virusnog genoma pomoću PCR metode. PCR metoda za detekciju DNK

virusa bolesti Aujeszkoga u uzorcima organa zbog mogućnosti brze dijganostika (1 dan) ima prednost nad konvencionalnim metodama izolacije virusa (WOAH, 2018.).

Serološka dijagnostika se primjenjuje za otkrivanje protutijela na virus bolesti Aujeszkoga uglavnom u subklinički ili latentno zaraženih svinja. Iako se ranije upotrebljavao virus neutralizacijski test, danas se u širokoj primjeni koristi imunoenzimni test (ELISA) kao vrlo brza i visoko osjetljiva metoda. Iako se kao glavni matriks preporuča krvni serum, ELISA test prikladan je i za otkrivanje protutijela na bolest Aujeszkoga i u uzorcima pune krvi (BANKS, 1985.), mlijeka i mesnog iscrpka. ELISA testom može se razlikovati životinja koja je cijepljena cjepivom s uklonjenim glikoproteinom gE od zaražene životinje (tzv. DIVA „Differentiating Infected from Vaccinated Animals“ koncept). Serološka dijagnostika bolesti Aujeszkoga u svinja ELISA testom danas je u širokoj primjeni u svrhu iskorjenjivanja bolesti i u prometu u trgovinske svrhe (WOAH, 2018).

U drugih se životinja, s obzirom na fatalni ishod bolesti i nemogućnost razvoja humoralne imunosti (WOAH, 2018.) ne primjenjuju serološki testovi.

2.6. Imunost

Imunogenost virusa bolesti Aujeszkoga ispoljava se stvaranjem protutijela i staničnim imunitetom (METTENLEITER, 1985.). Imunogenost je uglavnom inducirana od strane glikoproteina ovojnice virusa bolesti Aujeszkoga.

Glikoprotein gC je glavni cilj komplement neovisnih neutralizirajućih protutijela (HAMPL i sur., 1984.) i staničnog imunog odgovora T stanica. Komplement ovisna neutralizacijska protutijela za gB i gD glikoproteine su također utvrđena (HAMPL i sur., 1984.; METTENLEITER i sur. 2019.). Ova protutijela djeluju na način da sprječavaju prianjanje (anti-gC, anti-gD) ili penetraciju (anti-gB) viriona. U korelaciji s ovim nalazima, podjedinična cjepiva koja sadrže gB, gC ili gD glikoproteine kao i DNK cjepiva koja ih sadrže, mogu inducirati barem određenu razinu imuniteta protiv infekcije izazvane virusom bolesti Aujeszkoga (METTENLEITER, 2019.).

Kao i ostali herpesvirusi i virus bolesti Aujeszkoga pokušava izbjeći stanični imunosni odgovor. Vezanje protutijela za virusne glikoproteine na površini inficiranih stanica može rezultirati prikrivanjem virusa od imunosnog sustava (VAN DE WALLE i sur., 2003.). Unatoč ovakvom mehanizmu imunološke evazije, cijepljenje inaktiviranim ili modificiranim živim virusom bolesti Aujeszkoga, proteinskim antigenom ili DNK, može pobuditi solidan imunosni odgovor.

Modificirana živa cjepiva dokazala su se kao visoko učinkovita u smanjenju pojave kliničkih znakova bolesti Aujeszkoga (BARTHA, 1961.), iako ne sprječavaju infekciju niti latenciju terenskog virusa. Međutim, vezivanje ganglija s latentnim cjepnim virusom smanjuje mogućnost latencije nakon superinfekcije terenskim tipom virusa bolesti Aujeszkoga (SCHANG i sur., 1994., METTENLEITER i sur., 2019.).

2.6.1. Imunosni odgovor u svinja

Imunosni odgovor u zaraženih i cijepljenih svinja vrlo je brz no brzina imunosnog odgovora ovisi o soju virusa, putu ulaska i imunosnom stanju životinje. Specifična serumska protutijela prisutna su u krvi svinje već pri pojavi kliničkih znakova bolesti (KRETZSCHMAR, 1970.). Visoko osjetljivim serološkim metodama poput ELISA testa, protutijela se mogu otkriti već 5 do 7 dana od inokulacije, a virus neutralizacijskim testom (VNT) tek od 12. dana. U zaraženih životinja protutijela imunoglobulina (Ig) M razreda opstaju u krvi od 7. do 18. dana od inokulacije, dok u cijepljenih životinja u to vrijeme u potpunosti nestanu (MÜLLER i sur., 2001.). IgG protutijela javljaju se ranije u zaraženih (7. dan) nego u cijepljenih (10. dan) svinja i dosižu više srednje titrove. IgA protutijela javljaju se samo u zaraženih svinja od 10. dana nakon inokulacije (METTENLEITER i sur., 2019.). Tri tjedna od inokulacije virusa, IgG protutijela dostižu najviše razine i uglavnom perzistiraju doživotno. Samo u iznimnim slučajevima potvrđeno je da virus neutralizirajuća protutijela nestaju nakon dva do tri mjeseca (BLAHA, 1989.).

Imunitet nakon infekcije je trajan i vrlo stabilan te učinkovito štiti svinje od viremije i klinički manifestne bolesti. Takav imunitet uspješno štiti i nakon intracerebralne inokulacije (METTENLEITER i sur., 2019.). Iako su u imunih životinja potrebne značajno više infektivne doze virusa kako bi se prouzročila aktivna infekcija, virus se ipak lako širi unutar zaraženog uzgoja (BLAHA, 1989.). U latentno zaraženih svinja reaktivacija virusa bolesti Aujeszkoga nakon imunosupresije ili zbog ponovne izloženosti virusu, može uzrokovati porast titra virus neutralizacijskih protutijela. Međutim, nema dokaza da je reaktivacija latentnog virusa povezana s bilo kakvim jedinstvenim imunosnim odgovorom koji bi se mogao otkriti nekom dijagnostičkom metodom (MENGELING, 1991.).

2.6.2. Maternalna imunost

I u domaćih i divljih svinja imune krmače prenose specifična protutijela za bolest Aujeszkoga na potomstvo i to godinama nakon infekcije. Maternalna neutralizirajuća protutijela, uglavnom IgG, mogu se pronaći u 14 do 15 tjedana stare prasadi. Njihovo trajanje ovisi o prvotnoj koncentraciji (IGLESIAS i TRUJANO, 1989.; MÜLLER i sur., 2005.). Poluživot maternalnih protutijela je znatno dulji nego što je poznato za protutijela za druge infekcije. Protutijela za bolest Aujeszkoga mogu se otkriti ELISA testom i do 27 tjedana od prasenja što je dvostruko dulje od detekcije VNT-om (MÜLLER i sur., 2005.; TENHAGEN i sur., 1995.). Maternalni imunitet sprječava infekciju novorođene prasadi i može zaštititi od kliničke bolesti tako da se ograničava umnažanje virusa u središnjem živčanom sustavu. Odnos razine zaštite maternalnog imuniteta od neuroinvazivnosti u novorođene prasadi imunih krmača ovisi o soju virusa. Učinak neutralizirajućih protutijela ovisi i o visini njihovog titra pa s tim u svezi, visoki titrevi mogu u potpunosti zaštititi novorođenu prasad (KRITAS i sur., 1999.). Maternalna protutijela inhibiraju imunosni odgovor prasadi nakon cijepljenja, ali cjepivo s rekombinantnim virusom vakcinije koje ispoljava PRV glikoproteine može zaobići ova protutijela i stimulirati aktivni imunitet (METTENLEITER i sur., 2019.).

2.7. Mjere kontrole bolesti Aujeszkoga

Zbog učestale pojave bolesti Aujeszkoga u intenzivnim uzgojima svinja sedamdesetih godina prošlog stoljeća u nekim europskim zemljama započelo se s programima iskorjenjivanja baziranih na testiranju i klanju zaraženih svinja (eng. test and slaughter). Takva strategija rezultirala je iskorjenjivanjem bolesti Aujeszkoga iz uzgoja, ali su se i dalje pojavljivala nova izbijanja zbog unosa virusa nakon premještanja svinja ili putem zraka. U istočnoj Njemačkoj se bolest kontrolirala provođenjem cijepljenja te u kasnijoj fazi iskorjenjivanjem primjenom stamping-out metode (MÜLLER i sur., 2003.).

S obzirom na virusnu etiologiju bolesti Aujeszkoga, nema specifičnog liječenja.

Inaktivirana i atenuriana cjepiva koja su se koristila, bila su učinkovita u smanjenju širenja bolesti Aujeszkoga, ali nisu mogla eliminirati virus zbog latentne infekcije te moguće reaktivacije i posljedično, ponovnog širenja virusa bolesti Aujeszkoga. Početkom osamdesetih godina prošlog stoljeća počinje nova strategija kontrole bolesti nakon razvoja cjepiva s genetski modificiranim živim virusom bolesti Aujeszkoga kojemu su uklonjeni geni odgovorni za virulenciju (FREULING i sur., 2017.). Prvo takvo cjepivo odobreno je u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) 1986.

godine (KIT i KIT, 1991.). Cjepivo je sadržavalo virus kojem je genetskom manipulacijom uklonjen gen za timidin kinazu, odgovoran za virulenciju. U isto vrijeme otkriveno je da neki klasični virusni sojevi poput Bartha soja nose deleciju gena koji kodira imunogeni gE što ne narušava imunogenost cjepiva (METTENLEITER i sur., 1985.). Nakon razvoja ELISA testa kojim se mogu otkrivati IgE protutijela (VAN OIRSCHOT i sur., 1986.), kombinacijom marker cjepiva i ELISA testa moglo se razlikovati cijepljene od zaraženih životinja.

Bolest Aujeszkoga smatra se prvom bolesti u koje se primijenila DIVA strategija (FREULING i sur., 2017.). Marker cjepivo protiv bolesti Aujeszkoga bilo je prvo genetski modificirano živo cjepivo u širokoj primjeni (QUINT i sur., 1987.).

MENGELING i sur. (1992.), DONG i sur. (2014.) te FREULING i sur. (2017.), u svojim radovima detaljno opisuju razvoj cjepiva protiv bolesti Aujeszkoga. Kombinacija visoko učinkovitih DIVA cjepiva i ELISA testa kojim se može precizno otkriti prirodno inficirana životinja, omogućila je jednostavnije i dostižno iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga u svijetu.

U skladu s europskim zakonodavstvom i preporukama WOAH-a te na temelju iskustva država koje su uspješno iskorjenile bolest Auejszkoga iz populacije domaćih svinja, osim cijepljenja protiv bolesti Aujeszkoga, potrebno je primijeniti i druge mjere kontrole kako bi se uzgoji svinja zaštitili od infekcije. Način držanja svinja, higijena i biosigurnosne mjere preduvjet su uspješne zaštite uzgoja svinja od bolesti Aujeszkoga. U slučaju pojave bolesti zaražene svinje koje pokazuju kliničke znakove se usmrćuju, a latentno zaražene (seropozitivne) svinje upućuju na klanje. Zdrave svinje moraju se držati odvojeno uz primjenu svih biosigurnosnih mjera kako bi se spriječilo širenje virusa unutar uzgoja. U slučaju visoke prevalencije u uzgojima svinja ili u određenom području, u prvoj fazi iskorjenjivanja mogu se koristiti DIVA cjepiva kako bi se što je moguće više smanjilo daljnje širenje bolesti, nakon čega slijedi testiranje i uklanjanje preostalih seropozitivnih svinja. U završnoj fazi iskorjenjivanja uglavnom se prestaje s cijepljenjem, a nakon uspješnog iskorjenjivanja kao krajnja mjera provodi se depopulacija uzgoja sa seropozitivnim svinjama.

2.8. Bolest Aujeszkoga u Europskoj uniji i svijetu

2.8.1. Ekonomski značaj

Izravni gubici uzorkovani uslijed bolesti Aujeszkoga mogu biti vrlo veliki ukoliko se u neimunu populaciju svinja unese virulentni virus. Ipak, u svinjogojskoj proizvodnji gubici nisu toliko

povezani s izravnim štetama zbog uginuća, pobačaja ili kliničke manifestacije već zbog neizravnih ekonomskih troškova koji nastaju zbog mjera kontrole i trgovinskih razloga.

Analizom troška i koristi (engl. cost-benefit study) u SAD-u analizirani su troškovi iskorjenjivanja, produktivnosti i ekonomskih učinaka za zaražene i nezaražene uzgoje, što je uključivalo podatke o mortalitetu, utrošku hrane, veterinarskim i drugim troškovima. Studijom je izračunato da dolazi do znatnog smanjenja profita zbog infekcije virusom bolesti Aujeszkoga (MILLER i sur., 1996.). ZIMMERMAN i sur. (1989.) detaljno su analizirali troškove iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga u Iowi te su utvrdili da su najmanji troškovi ukoliko se pirmjenjuje strategija testiranja i klanja (engl. test and slaughter) pozitivnih svinja.

U drugoj studiji je također utvrđeno da izravni ekonomski gubici mogu biti vrlo visoki i to od 352 do 792 eura po krmači godišnje (COLOMER i sur., 2020.). U ekonomskoj analizi različitih pristupa kontroli bolesti Aujeszkoga u Nizozemskoj i Njemačkoj, MCINERNEY i KOOIJ (1997.) usporedili su ukupne troškove kontrole i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga te zaključili da je cijepljenje isplativo u gusto naseljenom području s višom prevalencijom u početnoj fazi iskorjenjivanja.

Studijom kineskih autora (LIU i sur., 2019.) procijenjen je ekonomski učinak mjera kontrole i iskorjenjivanja na 63 zaražene farme u Kini te je utvrđeno da je trošak iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga manji ukoliko se mjere započnu odmah i to za 8,02 milijuna kineskih juana, odnosno 8,34 milijuna kuna (odnos kineski juan : hrvatska kuna 1,04) godišnje po farmi, kroz četiri godine od početka iskorjenjivanja.

U svojoj procjeni bolesti Aujeszkoga EFSA (2017.) ističe da iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga potvrđuje da je primjena mjera kontrole u svrhu iskorjenjivanja, isplativija od same strategije cijepljenja. Opisuju troškove provedbe mjera iskorjenjivanja u regijama Francuske iz kojih proizlazi da su troškovi bilo mnogo viši u regijama u kojima se primjenjivalo cijepljenje. Dodatno, cijepljenje nije imalo učinak na smanjenje razine prevalencije bolesti Aujeszkoga u uzgojima svinja u regiji Bretanji nakon pet godina provedbe. Takva je strategija primijenjena od 1987. do 1992. godine, a od 1994. godine proizvođači su pristali promijeniti strategiju tako da uz cijepljenje primjenjuju i druge mjere. Nadalje, EFSA (2017.) navodi da osim troškova cjepiva, troškovi rastu i kada se uz cijepljenje kombinira testiranje. Ono što je također značajno prema EFSA-i (2017.), iskorjenjivanje bez cijepljenja može se postići već nakon tri do četiri godine, dok kod istovremene primjene cijepljenja, iskorjenjivanje može trajati i 10 do 15 godina.

2.8.2. Zakonodavstvo Europske unije

U Europskoj uniji bolest Aujeszkoga na popisu je bolesti koje se obavezno službeno prijavljuju nadležnom tijelu za zdravlje životinja svake države članice te Europskoj uniji sukladno europskom zakondavstvu. Zakonodavstvo Europske unije propisuje mjere kontrole bolesti te uvjete za premještanje svinja po pitanju bolesti Aujeszkoga. Zakon o zdravlju životinja (Uredba (EU) 2016/429) i Provedbena uredba 2018/1882 (ANONIMUS, 2016., ANONIMUS, 2018.) svrstava bolest Aujeszkoga u bolest kategorije C pod nazivom infekcija virusom bolesti Aujeszkoga. Procjenu i kategorizaciju provela je Europska komisija u suradnji s EFSA-om (EFSA, 2017.). Iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga kao bolesti kategorije C nije obavezno za države članice te svaka država članica može samostalno odlučiti provoditi dobrovoljni program iskorjenjivanja i time ispuniti uvjete za status države ili određenog njezinog područja, slobodno od infekcije virusom bolesti Aujeszkoga. Nakon ispunjavanja uvjeta država članica ili područje države članice proglašava se slobodnim od infekcije virusom bolesti Aujeszkoga što takvim državama daje pravo tražiti dodatna jamstva i udovoljavanje zahtjevima za premještanje pošiljki svinja koje se upućuju u slobodna područja ili države. Popis slobodnih država i područja ili onih s odobrenim programom iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga utvrđuje se Provedbenom uredbom Komisije (EU) 2021/620 od 15. travnja 2021. (ANONIMUS, 2021.). Mjere kontrole bolesti Aujeszkoga propisane su Delegiranom uredbom (EU) 2020/689 (ANONIMUS, 2020.).

Do 21. travnja 2021. godine, prije početka primjene novog zakonodavstva u području zdravlja životinja, na snazi je bila Direktiva Vijeća od 26. lipnja 1964. o zdravstvenim problemima životinja koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice (64/432/EEZ) (ANONIMUS, 1964.) te Odluka Komisije od 21. veljače 2008. o dodatnim jamstvima u trgovini svinjama unutar Zajednice vezano uz bolest Aujeszkoga i kriterijima za dostavu informacija o bolesti (2008/185/EZ) (ANONIMUS, 2008.). Prema odredbama ovih europskih pravnih akata, brojne države članice ostvarile su slobodne statuse u odnosu na bolest Aujeszkoga i zatražile reguliranje zdravstvenog statusa, odnosno dodatna jamstva za promet svinja iz država i područja koje nisu istoga statusa, što je i dalje prepoznato trenutno važećim europskim propisima.

2.8.3. WOAH preporuke

WOAH svrstava bolest Aujeszkoga na popis bolesti kao bolest više vrsta životinja, koja se obavezno prijavljuje. WOAH u Poglavlju 8.2. Priručnika za kopnene životinje (WOAH, 2021.)

daje preporuke za promet svinjama i proizvodima podrijetlom od svinja. Tako u uvodnom dijelu naglašava da države trebaju razlikovati infekciju u držanih svinja od one u divljih svinja te da u slučaju pojave bolesti Aujeszkoga u divljih svinja ne treba uvoditi zabrane uvoza. Osim odredbi koje utvrđuju slobodni status od bolesti Aujeszkoga, u predmetnom poglavlju WOAH navodi pošiljke koje se smatraju sigurnima i za koje države ne bi trebale uvoditi zabranu uvoza niti tražiti dodatne uvjete. Te pošiljke su svježe meso, proizvodi od mesa svinja i drugi proizvodi, ukoliko ne sadrže glavu i iznutrice (respiratorne i abdominalne organe).

Preporuke za promet živih svinja ovise o statusu države, područja ili uzgoja podrijetla te u slučaju da svinje potječu iz zaraženih država, za promet svinje trebaju udovoljavati posebnim uvjetima koji uključuju testiranja na bolest Aujeszkoga i zabranu cijepljenja. Ukoliko svinje potječu iz područja ili države slobodne od bolesti Aujeszkoga, testiranje prije prometa se ne zahtijeva, a životinje ne smiju biti cijepljenje protiv bolesti Aujeszkoga.

Standardi za laboratorijsku dijagnostiku i cjepivo utvrđeni su u Poglavlju 3.1.2. Dijagnostičkog priručnika WOAH-a (WOAH, 2018.). Metode koje WOAH preporuča za dokazivanje uzročnika su izolacija virusa i PCR. Izolacija virusa provodi se inokulacijom tkivnog homogenata mozga, tonzila ili tkiva nosa i grla na odgovarajuće linijske stanične kulture svinjskog bubrega (PK-15 i SK6). Specifičnost citopatogenog učinka potrebno je potvrditi imunofluorescencijom, imunoperoksidaznim testom ili neutralizacijom specifičnim antiserumom. Virusna DNK može se potvrditi PCR metodom i to PCR metodom u stvarnom vremenu (engl. real-time PCR).

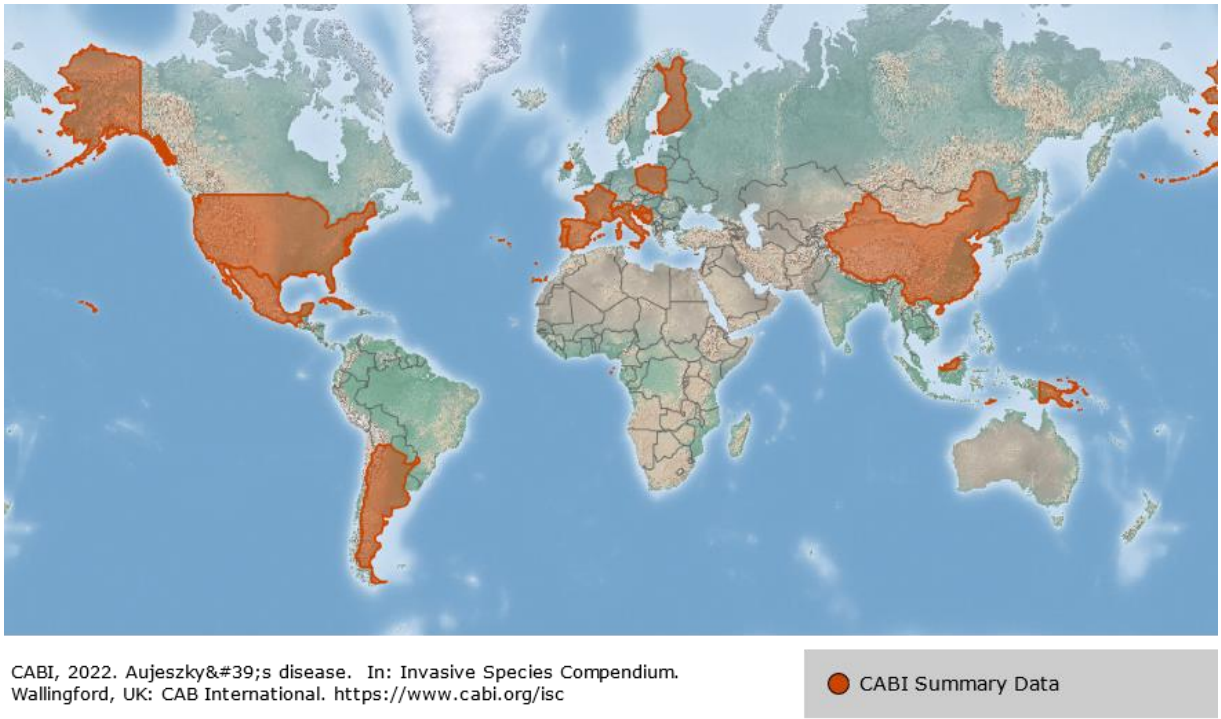
Za serološku dijagnostiku protutijela za bolest Aujeszkoga preporuča se VN test, aglutinacija ili ELISA test. Za serološku dijagnostiku WOAH međunarodni standardni referentni serum definira najnižu osjetljivost koju laboratoriji moraju postići za rutinsko testiranje i serološku dijagnostiku.

Od zahtjeva za cjepiva WOAH navodi da cjepivo mora barem sprječavati ili barem smanjiti širenje virusa od zaraženih svinja.

2.8.4. Proširenost bolesti Aujeszkoga u svijetu

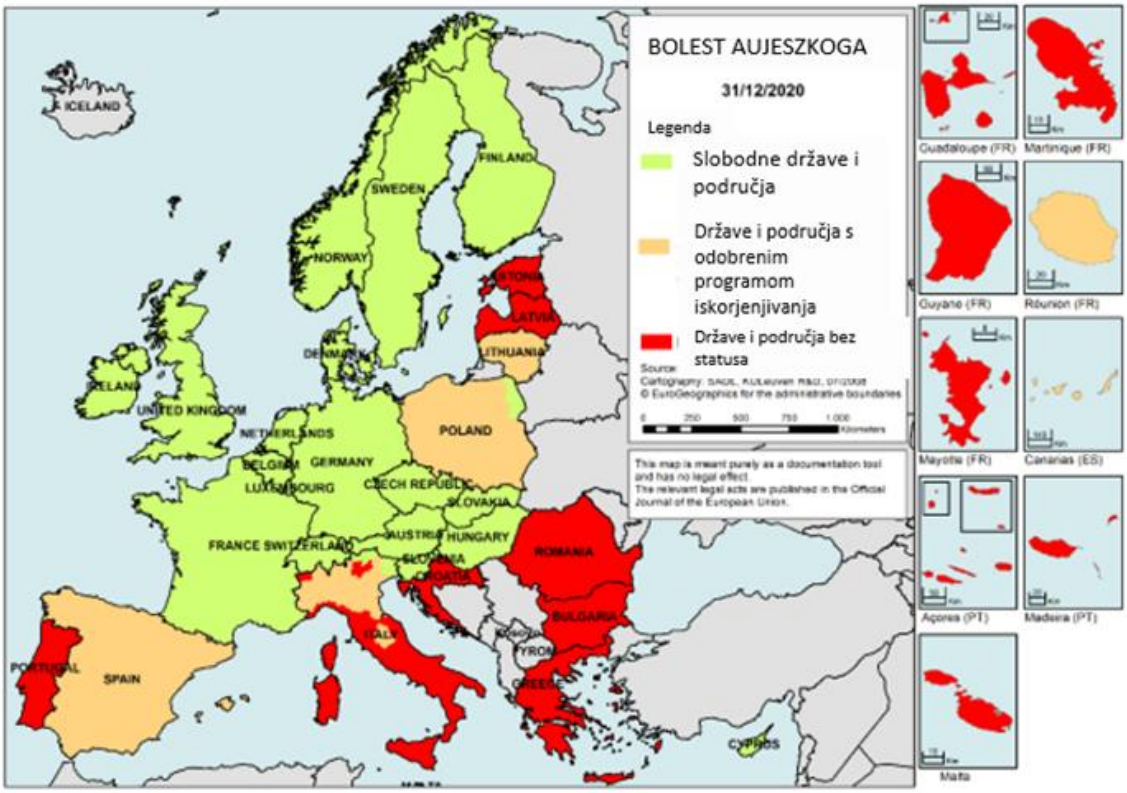
Bolest Aujeszkoga proširena je u cijelom svijetu no postoje države i područja koje se smatraju slobodnim. Ipak, u tim područjima odnosno državama, virus može biti prisutan u populaciji divljih svinja što predstavlja stalni rizik od ponovnog izbijanja bolesti Aujeszkoga u domaćih svinja. Tek je nekoliko regija u svijetu gdje bolest Aujeszkoga nikada nije postala endemična, a to su Norveška,

Australija i većina južno istočnih otoka Azije. Globalna proširenost prikazana je na Slici 12. prema izvješću WOAH-a.



Slika 12. Mapa područja s pojavom bolesti Aujeszkoga prema podacima WOAH-a za 2020. godinu
Izvor: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.92832#sec-19

Države i područja Europske unije proglašeni slobodnima od bolesti Aujeszkoga na dan 31.12.2020. prikazani su na Slici 13.



Slika 13. Mapa država i područja slobodnih od bolesti Aujeszkoga u Europskoj uniji
Izvor: https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-12/la_porc_map_free-from_aujesky.pdf

Popis država i regija Europske unije slobodnih od bolesti Aujeszkoga i onih s odobrenim programima iskorjenjivanja utvrđen je u Prilogu VI. Uredbe (EU) 2021/620 (ANONIMUS, 2021.). Za 15 država slobodan status odnosi se na cijelo državno područje, a za tri države, na njihove određene regije (područja). U pet država članica provode se odobreni programi iskorjenjivanja. Države bez statusa u odnosu na bolest Aujeszkoga su Bugarska, Grčka, Hrvatska, Latvija, Malta i Rumunjska.

Prema izvješću Europske komisije za 2020. godinu (ANONIMUS, 2020.) bolest Aujeszkoga pojavila se u dvije slobodne države članice, Mađarskoj i Francuskoj, u dvije države s odobrenim programom iskorjenjivanja Španjolskoj i Poljskoj te u tri države ili područja bez statusa u odnosu na bolest Aujeszkoga i to Hrvatskoj, Latviji i talijanskim regijama bez statusa.

U slučaju izbijanja bolesti Aujeszkoga u prethodno slobodnim državama ili područjima, države članice dužne su odmah izvijestiti ostale države članice i Europsku komisiju putem europskog informacijskog sustava za prijavu bolesti (The European Union Animal Diseases Information System (ADIS)) te privremeno suspendirati status slobodno od bolesti Aujeszkoga za zaražena

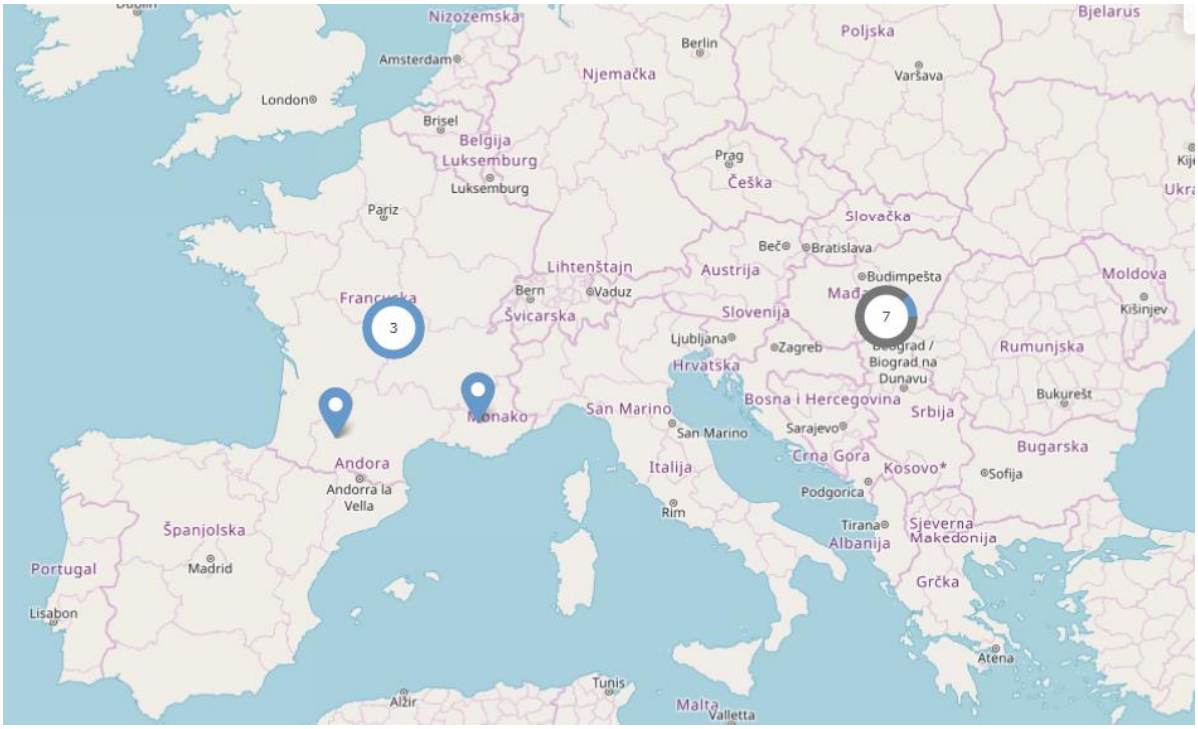
područja. Nakon što se provedu mjere kontrole koje uključuju klanje ili usmrćivanje svih svinja na zaraženim gospodarstvima te nakon testiranja svinja s negativnim rezultatima na bolest Aujeszkoga, status slobodno od bolesti Aujeszkoga se može vratiti.

Tijekom 2021. godine bolest Aujeszkoga pojavila se ponovno i u Mađarskoj i Francuskoj o čemu su Mađarska i Francuska izvijestile na Stalnom Odboru za biljke, životinje, hranu i hranu za životinje (The Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed (PAFF Committee)) u okviru Europske Komisije (https://ec.europa.eu/food/horizontal-topics/committees/paff-committees/animal-health-and-welfare/presentations_en#20220210).

U Francuskoj je bolest tijekom 2021. godine potvrđena tijekom redovnog godišnjeg aktivnog nadziranja i to u četiri farme koje uzgajaju divlje svinje i jednom malom uzgoju domaćih svinja za vlastite potrebe (engl. backyard) te se kao najvjerojatniji uzrok smatra kontakt s latentno zaraženim divljim svinjama. Izbijanje na jednoj farmi povezuje se s prethodnom infekcijom. Niti na jednoj farmi nije utvrđena povezanost s drugom zaraženom farmom.

U Mađarskoj je potvrđeno sedam izbijanja bolesti Aujeszkoga u 2021. godini i sva se povezuju s jednom primarno zaraženom farmom. Prvo je bolest Aujeszkoga serološki potvrđena na velikoj rasplodnoj farmi u krmače koja je pobacila. Zbog mjera kontrole na predmetnoj farmi zaklano je i usmrćeno 18.560 svinja. Također su provedena testiranja na kontaktnim farmama i u svibnju iste godine utvrđene su tri pozitivne tovne farme na koje su svinje dopremane sa zaražene farme. Ukupno je na tim farmama u okviru mjera kontrole zaklano 9.104 tovnih svinja. Kao mogući izvor infekcije navodi se ljudski faktor, odnosno radnici, dok kontakt s divljim svinjama smatraju malo vjerojatnim. Sekvenciranjem virusa utvrđeno je da je soj virusa 100% sličan s MdBio sojem izoliranim u Srbiji 2017. godine (ZSOLT i sur., 2019.). Također su tijekom epidemiološkog istraživanja utvrđene nesukladnosti po pitanju biosigurnosnih mjera. U drugoj polovici godine, sekundarna izbijanja potvrđena su na još tri farme.

Geografski prikaz izbijanja bolesti Aujeszkoga u Francuskoj i Mađarskoj vidljiv je na Slici 14.



Slika 14. Izbijanje bolesti Aujeszkoga u 2021. godini prema prijavi u ADIS
Izvor: https://webgate.ec.europa.eu/tracesnt/adis/outbreak/search#!?query=aujeszky&sort=-createdOn&createdFromDate=2021-01-01T00:00:00.000%2B01:00&createdToDate=2021-12-31T00:00:00.000%2B01:00

2.9. Bolest Aujeszkoga u Hrvatskoj

Bolest Aujeszkoga na popisu je bolesti koje se obavezno prijavljuju u Hrvatskoj. Prema podacima o prijavi bolesti životinja (Izvješća o pojavi bolesti životinja u Hrvatskoj, http://www.veterinarstvo.hr/default.aspx?id=185), bolest Aujeszkoga potvrđena je 2004. godine te ponovo 2011. godine od kada se kontinuirano potvrđuje svake godine. U razdoblju provedbe programa nadziranja i iskorjenjivanja od 2013. do 2021. godine bolest Aujeszkoga potvrđena je u latentno zaraženih svinja serološkom pretragom. U 2013. godini virus bolesti Aujeszkoga potvrđen je PCR metodom u uzorcima organa dvije uginule svinje. Nakon toga nije bilo PCR pozitivnih uzoraka podrijetlom od svinja niti su bili prijavljeni klinički znakovi bolesti Aujeszkoga u svinja. Najveći broj pozitivnih slučajeva utvrđen je tijekom 2014. i 2015. godine u početku provedbe programa, ali se i tijekom kasnijih godina potvrđuju zaražena gospodarstva. Bolest Aujeszkoga je, osim u domaćih svinja, potvrđena i u pasa te u divljih svinja (KEROS i sur., 2014.; KEROS i sur., 2015.; Izvješća o pojavi bolesti životinja u Hrvatskoj,

http://www.veterinarstvo.hr/default.aspx?id=185).

U Tablici 1. prikazan je broj potvrđenih slučajeva i mjesta izbijanja bolesti Aujeszkoga prijavljenih Upravi za veterinarstvo i sigurnost hrane u razdoblju od 2011. do 2021. godine. U domaćih svinja potvrđenim slučajem smatrala se svaka svinja s pozitivnim rezultatom serološke pretrage ELISA testom za utvrđivanje protutijela na glikoprotein I (gpI) glikoprotein B (gpB) ili na cijeli virus te u slučaju pozitivnog nalaza PCR metodom. U divljih svinja je također korišten ELISA test za utvrđivanje protutijela na gpI, a kod pasa je prisustvo virusa bolesti Aujeszkoga potvrđeno PCR metodom.

Tablica 1. Broj prijavljenih potvrđenih slučajeva i mjesta izbijanja bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj u razdoblju od 2011. do 2021. godine

Godina	Vrsta životinje	Ukupan broj lokacija izbijanja bolesti (infekcije)/ukupan broj slučajeva bolesti u zemlji
2011.	svinja	2/11
2012.	svinja	2/8
	divlja svinja	1
	pas	3/3
2013.	svinja	49/79
	pas	1/1
2014.	svinja	1132/1998
2015.	svinja	463/882
	pas	1/1
2016.	svinja	80/148
	pas	1/1
2017.	svinja	41/105
	divlja svinja	44
	pas	1/1
2018.	svinja	17/85
	divlja svinja	153
	pas	2/2
2019.	svinja	19/150
	pas	1/1
2020.	svinja	9/448
	pas	2/2
2021.	svinja	6/12

Prvo sustavno nadziranje bolesti Aujeszkoga provedeno je 2011. godine. Nadziranjem su bila obuhvaćena 124 gospodarstva s rasplodnim svinjama s 50 i više krmača i nazimica i 154 gospodarstava tovnih i miješanih uzgoja svinja s 500 i više životinja. Ukupno je pretraženo 9407 krvnih seruma svinja od kojih je utvrđeno 4,4% pozitivnih uzoraka (ROIĆ i sur., 2013.).

U Hrvatskoj su tada vezano za bolest Aujeszkoga na snazi bili pravni akti koji su prenijeli europsko zakonodavstvo i to Pravilnik o veterinarskim uvjetima za stavljanje u promet goveda i svinja (NN 71/12) (ANONIMUS, 2012.) i Pravilnik o dodatnim jamstvima u trgovini svinjama u odnosu na bolest Aujeszkoga i kriterijima za prikupljanje informacija o bolesti (NN 69/09) (ANONIMUS, 2009.). Ulaskom Hrvatske u Europsku uniju, pošiljke živih svinja morale su udovoljavati uvjetima i ispunjavati dodatna jamstva za promet u države članice ili područja sa statusom slobodno od Aujeszkoga ili s odobrenim programima iskorjenjivanja. Kako bi se omogućio promet svinja iz Hrvatske u Europsku Uniju, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede, 2013. godine uspostavlja prvi sveobuhvatni nacionalni program nadziranja i iskorjenjivanja u svrhu dodjele statusa gospodarstva slobodno od bolesti Aujeszkoga. 2013. i 2014. godine testiranje je bilo predviđeno na području 11 županija određenih prema brojnom stanju svinja i broja gospodarstava po pojedinoj županiji te restriktivnim mjerama u odnosu na klasičnu svinjsku kugu koje su tada bile na snazi za područje četiri županije (MALTAR, 2014.).

Programi su se nastavili provoditi na godišnjoj razini s obaveznim testiranjem u svim uzgojima koji drže krmače, dok se u gospodarstvima s tovnim svinjama, testiranje provodilo na zahtjev posjednika. Do 31. prosinca 2021. godine prema podacima iz baze podataka Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane, Ministarstva poljoprivrede - VETIs (sveobuhvatna baza podataka koja sadrži sve podatke o gospodarstvima te aktivnostima provedenim u okviru nadziranja bolesti i kategorizacije gospodarstava), za 27.672 gospodarstva dodijeljen je status gospodarstva slobodno od bolesti Aujeszkoga.

Na pozitivnim gospodarstvima provedene su mjere kontrole koje su uključivale klanje svih zaraženih svinja te dvokratno testiranje preostalih svinja na gospodarstvu s razmakom ne manjim od četiri mjeseca od prvog testiranja, u skladu sa propisanim odredbama. Bolest Aujeszkoga u domaćih svinja potvrđena je i tijekom 2021. godine. Detaljni podaci i analiza rezultata testiranja svinja na bolest Aujeszkoga prikazani su u rezultatima ovoga doktorskog rada.

2.10. Analiza rizika, epidemiološke studije i modeli u istraživanju bolesti Aujeszkoga

Napredak programa iskorjenjivanja te procjene i analize primijenjenih strategija za kontrolu i iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga opisane su korištenjem različitih epidemioloških i statističkih metoda (MARTINI i sur., 2003.; ALLEPUZ i sur., 2009.). MARTINI i sur. (2003.) su u svojoj studiji o napretku programa kontrole bolesti Aujeszkoga u Italiji koristili analizu preživljavanja (engl. survival analysis). ALLEPUZ i sur. (2009.) koristili su prostornu analizu i hijerarhijski Bayesian binominalni model kako bi usporedili prostorne varijable (udaljenost između gospodarstava, glavnih puteva, klaonica) kao čimbenike rizika za bolest Aujeszkoga.

U slobodnim državama i područjima, istraživanje se uglavnom odnosi na procjenu rizika od unošenja virusa bolesti Aujeszkoga prometom svinja ili kontaktom s divljim svinjama te na utvrđivanje i procjenu rizičnih čimbenika (MÁRTINEZ-LÓPEZ i sur., 2009.). U državama i područjima u kojima je bolest Aujeszkoga endemska ili je utvrđen virulentniji soj, istraživanja se odnose na epizootiologiju bolesti Aujeszkoga (VANNIER i sur., 1991.; KOSHEMETOV i sur., 2021.), opis slučaja bolesti Aujeszkoga (HARA i sur., 1991.), utvrđivanje puteva širenja virusa, dinamike širenja ili izvora virusa (MARSH i sur., 1991.; VAN NES i sur., 2001.; LI i sur., 2020.) te na molekularnu dijagnostiku virusa (MIKOVIĆ i sur., 2016.).

Više je mogućih čimbenika rizika za unos bolesti u uzgoje svinja (TAMBA i sur., 2002.; ROBERTSON, 2020.), većina ih se povezuje s razinom biosigurnosti no farmska praksa, način proizvodnje, veličina gospodarstva, lokacija i sl. mogu također biti čimbenici rizika (AUSTIN i WEIGEL, 1992.; SIEGEL i sur., 1993.; SOLYMOSI i sur., 2004.; HU i sur., 2016.; CARUSO i sur., 2018.; XIA i sur., 2018.).

CHARRIER i sur. (2018.) su pomoću QAICc modela utvrdili kontakt domaćih svinja s divljim svinjama kao čimbenik rizika.

CALBA i sur. (2015.) u svojem radu opisuju pristup za procjenu sustava nadziranja bolesti kako bi se identificirale i usporedile prednosti i ograničenja različitih i to primjenom sustavnog pregleda koristeći PRISMA smjernice (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (MOHER i sur., 2009.). U radu je utvrđeno kako su razvijeni razni pristupi za procjenu koji uglavnom ciljaju samo određene značajke nadziranja što daje samo opće preporuke. Zaključeno je kako postoji potreba za razvojem sveobuhvatnog pristupa procjeni sustava nadziranja bolesti koji treba biti:

- cjelovit tako da osim epidemioloških značajki obuhvaća i društvene i ekonomske značajke
- fleksibilan i prilagodljiv kontekstu (svrha nadziranja i cilj procjene) i mogućim ograničenjima u procjeni (vrijeme, resursi, dostupni podaci itd.)
- operativan, tj. dokumentirani i strukturirani proces za provođenje procjene koji uključuje upute za odabir odgovarajućih značajki te za odabir praktičnih metoda i alata.

Metaanaliza se primjenjuje u analizi rizičnih čimbenika kako bi se dobile objedinjene procjene izgleda za infekciju (VAN ROON i sur., 2020.), a simulacijski modeli kako bi se utvrdila osjetljivost i trajanje sustava nadziranja (SCHULZ i sur., 2016.).

Matematički modeli koriste se u razumijevanju čimbenika koji utječu na epidemiologiju zaraznih bolesti i u svrhu osmišljavanja učinkovitije strategije kontrole. Modelima se razvijaju različiti scenariji 'što ako' u svrhu predviđanja učinaka različitih intervencija i vjerojatne dinamike bolesti kao i ishoda prijenosa (COLOMER i sur., 2020.). COLOMER i sur. (2020.) razvili su model dinamike populacije (engl. Population Dynamics P Systems Model) kako bi testirali različite strategije kontrole i cijepljenja protiv bolesti Aujeszkoga. VAN NESS i sur. (2001.) opisuju stohastički SIR (Susceptible-Infectious-Recovered (SIR)) model za procjenu R_{ind} (zaražena svinja) koristeći podatke s terena i iz eksperimenata te je jedan od zaključaka da bi se virus bolesti Auejszkoga iskorijenio iz nekog područja, nije nužno da R_{ind} bude manji od 1, ali u prosjeku je nužno da jedno zaraženo stado (R_{herd}) zarazi manje od jednog drugog stada ($R_{herd}<1$). Ipak, bolest Aujeszkoga će se brže iskorijeniti kada je $R_{ind} <1$ nego kada je $R_{herd} <1$. Također su utvrdili da je glavni fenomen koji određuje prijenos virusa bolesti Aujeszkoga na regionalnoj razini prijevoz zaraženih životinja iz zaraženog stada i drugi kontakti (uglavnom putem zraka) sa zaraženim stadima.

MADOUASSE i sur. (2022.) opisali su model za predviđanje vjerojatnosti infekcije na razini stada na bazi longitudinalnih podataka za bolest virusnog proljeva goveda, a model je moguće nakon prilagodbe koristiti i u modeliranju bolesti Aujszkoga.

Osim prethodno spomenutih radova koji su analizirali određene rizične čimbenike za unos i širenje virusa bolesti Aujeszkoga poput gustoće, kategorije, lokacije i sl., pretraživanjem dostupnih baza podataka nisu nađeni radovi koji su analizirali učinak pojedine biosigurnosne mjere isključivo vezano za bolest Aujeszkoga.

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Pretpostavka je da proširenost, ali i učestalost (incidencija) bolesti Aujeszkoga značajno varira u korelaciji s određenim čimbenicima rizika i razinom biosigurnosti: broj i kategorija svinja na gospodarstvu, način držanja svinja, lokacija gospodarstva, gustoća populacije svinja, učestalost premještanja svinja, pojava bolesti Aujeszkoga u blizini gospodarstva i primijenjene mjere biosigurnosti. Također, pretpostavka je da bi iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga usmjereno na relevantne čimbenike rizika i poboljšanje razine biosigurnosti na gospodarstvima na kojima se drže svinje bilo brže i time učinkovitije.

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. utvrditi prevalenciju infekcije virusom bolesti Aujeszkoga u populaciji domaćih svinja
2. utvrditi povezane čimbenike rizika
3. procijeniti i utvrditi dinamiku kretanja bolesti Aujeszkoga
4. na temelju dobivenih rezultata dati smjernice za izradu nove učinkovitije strategije i politike u pristupu kontrole bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj temeljene na riziku s ciljem njenog iskorjenjivanja.

4. MATERIJAL I METODE

Kako bi se mogla provesti sveobuhvatna analiza i donijeti zaključci, materijali korišteni u ovome radu podijeljeni su u nekoliko skupina, odnosno razina, prilagođenih ciljevima istraživanja:

- populacija: životinje i gospodarstva u razdoblju od 2013. do 2021. godine
- laboratorijsko testiranje na bolest Aujeszkoga u razdoblju od 2013. do 2021. godine
- usporedni podaci o kategoriziranim gospodarstvima i testiranju na bolest Aujeszkoga na dan 31.1.2021. godine.

Analiza je rađena unutar svake skupine zasebno, a u raspravi su rezultati zasebnih analiza u svakoj skupini/razini, uspoređeni u svrhu zaključaka te davanja smjernica za izradu nove učinkovitije strategije i politike u pristupu kontrole bolesti Aujeszkoga u Hrvatskoj temeljene na riziku s ciljem njenog iskorjenjivanja.

4.1. Populacija

Populaciju obuhvaćenu ovim radom čine domaće svinje držane na gospodarstvima s čitavog područja Hrvatske podijeljeno prema županijama. Populacija domaćih svinja u Hrvatskoj na dan 31.12.2021. broji 1.257.753 svinja na 72.144 gospodarstva. Kao brojno stanje svinja i gospodarstava uzeti su podaci iz VETIs baze za tri referentne godine, 2012. 2019. i 2021. godinu (Tablica 2.). 2012. godine brojno stanje svinja i gospodarstava sa svinjama temeljeno je na rezultatima veterinarskih pregleda koji su obuhvaćali sva registrirana gospodarstva te se može smatrati najtočnijim brojnim stanjem za 2012. godinu. Sljedeća referentna godina je 2019. kada su podaci temeljeni na rezultatima pregleda gospodarstva sa svinjama u svrhu njihove kategorizacije u odnosu na biosigurnosne mjere. Kategorizacija je nastavljena tijekom 2020. i 2021. godine te se kao konačno brojno stanje uzima stanje na dan 31.12.2021. godine.

Tablica 2. Brojno stanje svinja prema referentnim godinama

Županija	2012		2019		2021	
	Broj gosp.	Broj svinja	Broj gosp.	Broj svinja	Broj gosp.	Broj svinja
Bjelovarsko-bilogorska	6184	92303	5033	75147	5072	83602
Brodsko-posavska	6155	131880	4552	116004	4839	116557
Dubrovačko-neretvanska	77	357	12	107	8	34
Grad zagreb	1076	9506	814	8195	854	8717
Istarska	2068	9100	1451	7654	1447	7639
Karlovačka	4353	24192	3520	20992	3644	22851
Koprivničko-križevačka	5826	97499	4612	87222	4617	81567
Krapinsko-zagorska	9898	45494	7509	35453	7876	36563
Ličko-senjska	777	2861	560	2562	577	2570
Međimurska	3534	63458	2316	35378	2379	38272
Osječko-baranjska	9800	309880	7313	312275	7946	347447
Požeško-slavonska	3521	41120	2505	35586	2544	37912
Primorsko-goranska	222	1147	81	595	80	686
Sisačko-moslavačka	7499	68778	5154	46493	5683	57982
Splitsko-dalmatinska	3533	13489	836	5641	827	6622
Šibensko-kninska	206	1101	100	1561	93	1373
Varaždinska	7759	79316	5213	50456	5660	55533
Virovitičko-podravska	5479	75391	3785	37356	3849	41053
Vukovarsko-srijemska	7982	189575	6289	184464	6496	199114
Zadarska	392	1143	193	2679	187	1903
Zagrebačka	8984	127712	7065	104950	7466	109756
Ukupno	95.325	1.385.302	68.913	1.170.770	72.144	1.257.753

Broj gospodarstava sa svinjama u posljednje tri godine istraživanog razdoblja kreće se oko 70 tisuća, a broj svinja oko 1,2 milijuna. Strukturu gospodarstava u Hrvatskoj čine mala gospodarstva do 10 svinja i to čak 73,85% ukupnog broja gospodarstava, ali sa samo 16,79% ukupne populacije domaćih svinja. 83% populacije domaćih svinja drži se na gospodarstvima s 11 i više svinja (Tablica 3.). Također, distribucija gospodarstava, osim po broju svinja, razlikuje se ovisno o županiji pa je tako najveći broj gospodarstava smješten na području istočnih i sjeverozapadnih županija (Tablica 4.).

Tablica 3. Brojno stanje na dan 31.12.2021. prema veličini gospodarstva

Veličina	Broj gosp.	%	Broj svinja	%
< 11	53.275	73,85	211.164	16,79
11-100	18.136	25,14	438.703	34,88
> 100	733	1,02	607.886	48,33
Ukupno	72.144	100	1.257.753	100

Tablica 4. Broj gospodarstava po županijama

Županija	Broj gospodarstava
Bjelovarsko-bilogorska	5072
Brodsko-posavska	4839
Dubrovačko-neretvanska	8
Grad Zagreb	854
Istarska	1447
Karlovačka	3644
Koprivničko-križevačka	4617
Krapinsko-zagorska	7876
Ličko-senjska	577
Međimurska	2379
Osječko-baranjska	7946
Požeško-slavonska	2544
Primorsko-goranska	80
Sisačko-moslavačka	5683
Splitsko-dalmatinska	827
Šibensko-kninska	93
Varaždinska	5660
Virovitičko-podravska	3849
Vukovarsko-srijemska	6496
Zadarska	187
Zagrebačka	7466
Ukupno	72144

4.2. Uzorci

Uzorke prikupljene i obuhvaćene ovim radom u razdoblju od 2013. do 2021. godine u okviru programa nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga u Republici Hrvatskoj činili su uzorci krvi te u manjem broju drugi uzorci podrijetlom od svinja najčešće uzeti u krmača nakon pobačaja. Program je obuhvaćao pasivno i aktivno nadziranje, a glavnina pretraženih uzoraka odnosila se na uzorke uzete u okviru aktivnog nadziranja, od klinički zdravih svinja. Uzorci su se uzimali u broju određenom na temelju tablice prevalencije ovisno o broju svinja na gospodarstvu. Zadana prevalencija razlikovala se ovisno o dinamici testiranja te je u slučaju jednokratnog testiranja trebalo biti uzeto onoliko uzoraka koji omogućuju otkrivanje najmanje jednog pozitivnog uzorka ako je bolest Aujeszkoga prisutna u prevalenciji od 2% pri razini povjerenja od 95%, odnosno 10% prevalenciji ukoliko se radilo o tovnim svinjama u gospodarstvima koji imaju „all in - all out“ sustav. Za dvokratno testiranje broj svinja od koji su se uzimali uzorci krvi bio je određen prema 5% prevalenciji, a uzorci su se uzimali s razmakom od 4 do 12 mjeseci od prvog testiranja. Od početka provedbe nadziranja bolesti Aujeszkoga 2013. godine, uzorkovanje na malim gospodarstvima s do deset svinja financirano je iz sredstava državnog proračuna, dok su na većim gospodarstvima troškovi bili podijeljeni na način da su uzorkovanje plaćali posjednici, a dijagnostičke pretrage bile su financirane iz proračunskih sredstava. Gospodarstva s tovnim svinjama uzorkovala su se na zahtjev posjednika i uz vlastito financiranje. U ovom radu obrađeni su svi rezultati testiranja bez obzira na svrhu uzorkovanja i izvore financiranja.

Manji broj uzoraka uzet je u okviru pasivnog nadziranja koje je obuhvaćalo uzimanje uzoraka podrijetlom od svinja s uočenim kliničkim znakovima ili krmača koje su pobacile u svrhu molekularne pretrage.

Uzimanje uzoraka provodili su ovlašteni veterinari ovlaštenih veterinarskih organizacija. Podaci o uzorcima uneseni su se u bazu podataka Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede VETIs – „Pretraživanje na bolesti – Bolest Aujeszkoga“.

Svako gospodarstvo na kojem je barem jedna svinja testirana s pozitivnim rezultatom serološke pretrage, smatralo se pozitivnim, odnosno zaraženim gospodarstvom.

4.2.1. Uzimanje i pohrana uzoraka

Za serološku pretragu uzeto je 4 do 5 ml krvi bez antikoagulansa. Nakon uzimanja krvi, epruvete su bile začepljene i obilježene jedinstvenim brojem (oznakom) naznačenim na radnom obrascu za

uzorkovanje BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“ (Prilog 1), koji sadrži podatke o gospodarstvu na kojem su držane svinje u svrhu osiguravanja sljedivosti svakog uzorka. U slučaju slanja krvi za molekularnu (virusološku) pretragu, korištene su epruvete s antikoagulansom. Uzorci su prije slanja pohranjeni na temperaturi od 4º C do 8º C, najdulje 36 sati, kako bi se izbjegla pojava hemolize.

Prije slanja u službeni laboratorij podaci o uzorkovanju uneseni su u VETIs te se po završetku unosa iz VETIs-a ispisao završni obrazac BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“ s jedinstvenom identifikacijskom oznakom koji je zajedno s uzorcima dostavljen u službeni laboratorij HVI-a (Prilog 2). Svaka epruveta, odnosno svaki uzorak, bio je označen brojem identičnim broju koji je uz predmetnu životinju ispisan na popratnom Obrascu za dostavu uzoraka kako bi se osigurala sljedivost svakog uzorka.

4.2.2. Prijem, obrada i broj uzoraka

Uzorci su dostavljeni te pretraženi u službenim laboratorijima Hrvatskog veterinarskog instituta (HVI) u Zagrebu te podružnicama HVI-a, Veterinarskom zavodu Vinkovci i Veterinarskom zavodu Križevci.

Prilikom prijema uzoraka u laboratorij, uzorci i popratni Obrasci za dostavu uzoraka su provjereni te je svaki hemolitični uzorak ili uzorak za kojeg nije bilo moguće utvrditi sljedivost odbijen od strane službenog laboratorija kao nepodesan za pretragu.

Podaci o uzorcima su zatim uneseni u interni laboratorijski sustav za praćenje uzoraka i pretraživanja – VetLab HVI-a te su se po završetku pretrage i izdavanju izvješća o rezultatima pretraživanja podaci automatski prenosili u VETIs i pridruživali svakom pojedinom uzorku, odnosno jedinstvenoj oznaci obrasca BA.SV (Prilog 2).

U razdoblju od 2013. do 2021. godine u VETIs-u je evidentirano ukupno 223.549 uzoraka dostavljenih u laboratorije uz pratećih 76.127 evidencijskih obrazaca BA.SV (Prilog 2).

U daljnju obradu i analizu u ovom doktorskom radu uključeni su isključivo uzorci za koje su u bazi podataka pridruženi podaci o provedenom serološkom pretraživanju na bolest Aujeszkoga, dok je 3.575 uzoraka za koje takvih podataka nema, odbačeno. Razlozi nepretraživanja su različiti, a najčešće se radilo o uzorcima nepodesnim za pretraživanje odbačenim od strane službenog laboratorija, bilo zbog hemolize ili zbog nedostatnih podataka o uzorku. Stoga su u ovom radu

analizirani rezultati seroloških pretraga za 219.974 uzoraka krvi svinja uzetih s 36.255 gospodarstava u okviru aktivnog nadziranja.

Podaci o rezultatima laboratorijskog pretraživanja na bolest Aujeszkoga u okviru pasivnog nadziranja dohvaćeni su izravno iz službenih laboratorija te obuhvaćaju ukupno 838 uzoraka pretraženih PCR metodom. Uzorci u okviru pasivnog nadziranja uzeti su od krmača koje su pobacile i to krv te posteljica, pobačeni fetus ili organi pobačenog fetusa ili uzorci krvi te brisevi nosa od svinja s uočenim znakovima bolesti Aujeszkoga.

4.2.3. Serološko pretraživanje

Uzorci krvi uzeti od zdravih svinja u okviru aktivnog nadziranja pretraženi su serološkom pretragom i to akreditiranom metodom, odnosno imunoenzimnim testom za dokazivanje protutijela za gpI antigen virusa bolesti Aujeszkoga u svinja (Pseudorabies Virus gpI Antibody test Kit, IDEXX PRV/ADV gI, IDEXX Laboratories, Inc. Worldwide Headquarters One IDEXX Drive Westbrook, Maine, USA). Imunoenzimni test (ELISA) se sukladno Poglavlju 3.1.2. WOAH Dijagnostičkog priručnika za kopnene životinje preporuča kao test izbora u programima iskorjenjivanja kao i u nadziranju bolesti Aujeszkoga za utvrđivanje prevalencije infekcije. ELISA test je komercijalno dostupan, visoko osjetljiv (iznad 95%) i dovoljno specifičan test (min. 95%) za redovnu upotrebu koji se može provoditi automatski i kojim se može u kratkom vremenu pretražiti velik broj uzoraka. Većina komercijalno dostupnih ELISA testova koji se koriste uglavnom imaju vrijednost [osjetljivosti] i specifičnosti između 96 i 99% (EFSA, 2017.). ELISA test Pseudorabies Virus gpI Antibody test Kit, IDEXX PRV/ADV gI (IDEXX Laboratories, Inc. Worldwide Headquarters One IDEXX Drive Westbrook, Maine, USA) korišten za pretraživanje, utvrđuje protutijela na gpI antigen virusa bolesti Aujeszkoga u svinja prilikom čega će svinje cijepljene cjepivom s uklonjenim gI (gE) glikoproteinom (DIVA), biti negativne na ovom testu, dok će one koje su došle u dodir s terenskim sojevima virusa, ili su cijepljene cjepivima koje sadrže atenuirani, odnosno cjeloviti virus biti pozitivne. U provedbi samoga testa, antigen (gpI virusa bolesti Aujeszkoga) je vezan za stijenke polistirenske mikrotitracijske plitice (mikroploča) koja sadrži 96 (12x8) jažica. Serum se dodaje u razrjeđenju 1:2. Tijekom prve inkubacije kod pozitivne se reakcije protutijela prisutna u uzorku seruma, uključujući i protutijela za gpI antigen, vežu za antigen na mikroploči. Nakon inkubacije i ispiranja u jažice se dodaje specifični konjugat (Anti-PRv gpI HRPO konjugat), odnosno monoklonska protutijela obilježena peroksidazom koja imaju

sposobnost vezivanja za gpI antigen tijekom druge inkubacije. Ako specifična gpI protutijela za virus bolesti Aujeszkoga nisu prisutna u ispitivanom serumu, gpI monoklonalna protutijela obilježena peroksidazom će se vezati se za slobodan gpI antigen u jažicama mikrotitarske plitice. Međutim, ako su specifična gpI protutijela za virus bolesti Aujeszkoga prisutna u ispitivanom serumu, obilježena konjugirana monoklonska protutijela će se isprati te će se nakon dodavanja supstrata/kromogena pojaviti plava boja. Optička gustoća dobivene boje (eng. optical density (OD)) mjeri se spektrofotometrom upotrebom filtra od 650 nm. Rezultat se dobije tako da se srednja vrijednost OD uzorka podijeli sa srednjom vrijednosti OD negativne kontrole i dobije se vrijednost S/N (uzorak/negativna kontrola) sukladno prikazanom izračunu.

Izračun

1. Izračunati srednju vrijednost Negativne kontrole (NCx)

$$NCx = \frac{A1\ A(650) + A2\ A(650) + A3\ A(650)}{3}$$

2. Izračunati srednju vrijednost Pozitivne kontrole (PCx)

$$PCx = \frac{A4\ A(650) + A5\ A(650)}{2}$$

3. Izračunati omjer S/N pretraživanog uzorka (uzorak/negativna kontrola (sample/negative)

$$S/N = \frac{\text{Uzorak } A(650)}{NCx}$$

Tumačenje rezultata

Ako je S/N omjer manji ili jednak 0.60 uzorak je pozitivan na prisustvo protutijela za virus bolesti Aujeszkoga.

Ako je S/N omjer manji ili jednak 0.70, ali veći od 0.60, uzorak je sumnjiv na protutijela za virus bolesti Aujeszkoga (testiranje se ponavlja).

Ako je S/N omjer veći od 0.70 uzorak je negativan na prisustvo protutijela za virus bolesti Aujeszkoga.

U pojedinim slučajevima, najčešće u svrhu premještanja svinja u međunarodnom prometu te dokazivanja odsutnosti infekcije u nerasta koji se koriste za prikupljanje sjemena za umjetno osjemenjivanje, svinje moraju biti negativne na cijeli virus bolesti Aujeszkoga i tada se koristi i imunoenzimni test za dokazivanje protutijela za gB antigen virusa bolesti Aujeszkoga u svinja (Pseudorabies Virus gB Antibody test Kit, IDEXX PRV/ADV gB, IDEXX Laboratories, Inc. Worldwide Headquarters One IDEXX Drive Westbrook, Maine, USA) koji detektira protutijela na gpB odnosno seropozitivne svinje neovisno o cijepljenju.

4.2.4. Molekularno pretraživanje

Laboratorijske metode koje se koriste u molekularnom pretraživanju uzoraka u svrhu dokaza samog virusa bolesti Aujeszkoga su metoda ugnježđene lančane reakcije polimerazom (nested PCR) za umnažanje odsječka gB gena virusa bolesti Aujeszkoga i metoda lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (real-time PCR) za dokaz virusa bolesti Aujeszkoga (odsječci gena gB i gE).

Za dokaz DNK virusa bolesti Aujeszkoga koristila se visoko osjetljiva i specifična metoda lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (WENJUN i sur., 2008.), koja ujedno omogućuje prepoznavanje specifičnih regija genoma virusa, i to dijela koji kodira za gE, te regije koja kodira za gB. Ovom je metodom moguće detektirati DNK virusa bolesti Aujeszkoga u moždanom tkivu domaćih i divljih vrsta životinja, te dodatno i u uzorcima seruma, plazme, krvi kojoj je dodan antikoagulans, te potom i u placenti, lohijama, pobačenim plodovima i uzorcima drugih tkiva i organa domaćih i divljih svinja.

Postupak se provodio po MA i sur. (2008.). Metoda koristi reagense:

Komplet: highQu qPCR Probe ROX L (highQu, Kraichtal, Njemačka)

Probe (gB785P): 59-ACGTCATCGTCACGACC-3994

Uzlazna početnica (gB718F): 9-ACAAGTTCAAGGCCCACATCTAC-3994

Silazna početnica (gB812R): 59-GTCYGTGAAGCGGTTCGTGAT-3994PRV gE gene

Probe (gE708P): 59-TTCGACCTGATGCCGC-3972

Uzlazna početnica (gE694F): 59-CTTCCACTCGCAGCTCTTCTC-3972

Silazna početnica (gE765R): 59-GTRAAGTTCTCGCGCGAGT-3972

Prva etapa podrazumijeva izolaciju virusne DNK, a druga lančanu reakciju polimerazom u stvarnom vremenu.

Uzorak za qRT-PCR u 0,2 ml epruveti priprema se na sljedeći način:

Priprema Master Mix-a (za 1 uzorak):

1Step RT qPCR Mix, 2x	10 µl
Mix Primeri/Proba	2 µl
RNase-free H2O	5 µl
17 µL mix-a + 3 µL izolata DNK	

Temperaturni program:	95ºC	2 min	
	95ºC	5 sec	40x
	62ºC	30 sec	

Nakon završenog postupka rezultati su prikazani u računalu kao krivulje fluorescencije i izražene kao Ct vrijednost za FAM-a i HEX-a (interna kontrola) za svaki uzorak posebno. Ct vrijednost ili ciklusni graničnik pokazuje u kojem je ciklusu PCR reakcije fluorescentni signal PCR proizvoda jači od pozadinskog tj. u kojem ciklusu je vidljiva pozitivna reakcija. Ct vrijednosti su obrnuto razmjerne količini PCR proizvoda u uzorku, dakle što su Ct vrijednosti niže, količina PCR proizvoda je viša. U pravilu su sve vrijednosti ispod Ct 36 pozitivne, ali vrijednosti mogu biti i više.

Prije nego su prihvaćeni rezultati računalnog programa pregledane su amplifikacijske krivulje pojedinačno za svaki uzorak. Analiza je valjana ukoliko su pozitivne kontrole (interna pozitivna kontrola) dale pozitivan rezultat u očekivanom rasponu, a negativna kontrola, negativan rezultat prema sljedećem prikazu:

Primjer	A	B	C	D
FAM umnažanje	ne	da	da	ne
HEX umnažanje	da	da	ne	ne
Rezultat	negativno	pozitivno	jako pozitivno	neodređeno.

Kriteriji valjanosti testa s obzirom na signal u referentnim kontrolnim uzorcima su sljedeći:

Test se smatra valjanim, a uzorak pozitivnim na BA ukoliko su zadovoljeni sljedeći kriteriji:

- uzorak ima signal i u FAM i u HEX kanalu, Ct<45

- pozitivna kontrola ima signal i u FAM i u HEX kanalu, Ct<45
- krivulje fluorescencije/umnožavanja imaju sigmoidalan/logaritamski oblik
- negativna kontrola nema signal niti u jednom kanalu.

Ukoliko navedene varijable nisu u očekivanim vrijednostima, uzrok može biti i vrlo visoka koncentracija DNK u uzorku kada se smanjenje ili gubi HEX signal zbog kompeticije s internom kontrolom.

Test se smatra valjanim, a uzorak negativnim na bolest Aujeszkoga ukoliko su zadovoljeni sljedeći kriteriji:

- uzorak ima signal u HEX kanalu (Ct<45), ali nema u FAM kanalu ili je Ct>45 i krivulja fluorescencije je linearna,
- pozitivna kontrola ima signal i u FAM i u HEX kanalu, a Ct<45
- negativna kontrola nema signal niti u jednom kanalu.

Pozitivan HEX signal ukazuje na uspješnost izolacije i umnožavanja s obzirom da je „housekeeping“ gene u uzorku umnožen. Ukoliko je Ct vrijednost interne kontrole >35 uzorak je moguće inhibiran, te se treba razrijediti (npr. razrjeđenje 1:5) vodom bez nukleaza i ponovno testirati.

Test se smatra valjanim, a rezultat dvojbenim ukoliko:

- uzorak nema signal niti u jednom kanalu ili je Ct vrijednost <45, a krivulja fluorescencije ima sigmoidan/logaritamski oblik.

Odsutnost signala „housekeeping“ gena ukazuje na inhibiciju lančane reakcije polimerazom. Kako bi se provjerilo radi li se o inhibiciji, provodi se razrjeđivanje DNK u vodi bez nukleaza te ponavljanje izolacije ili testa s novim materijalom. Limit detekcije odredio se testiranjem desetorostrukih serijskih razrjeđenja jako pozitivnog referentnog seruma te ispitivanjem kontrolnog (negativnog uzorka). Limit detekcije predstavlja najveće razrjeđenje virusa u kojem je još uvijek moguće detektirati virusnu DNK (postupak validacije). Limit detekcije utvrđen postupkom validacije iznosi Ct<45.

4.3. Podaci o gospodarstvima

U ovom radu korišteni su podaci o gospodarstvima dostupni u VETIs-u. Podaci o gospodarstvima uključuju jedinstveni identifikacijski broj gospodarstava (JIBG) i njegov zemljopisni položaj (koordinate) te adresu koja uključuje županiju, grad ili općinu, naselje, ulicu i kućni broj, kako je

uneseno u VETIs prilikom njihove prve registracije. Ostali podaci o gospodarstvima prikupljeni su i uneseni u VETIs prilikom uzorkovanja na bolest Aujeszkoga i kategorizacije gospodarstava od strane ovlaštenih veterinara.

4.3.1. Kategorizacija gospodarstava

U ovom radu korišteni su podaci iz VETIs-a o kategorizacijama gospodarstava na kojima se drže svinje. Kategorizacija je započela u ožujku 2019. godine u svrhu provjere mjera biosigurnosti te prikupljanja podataka o gospodarstvima i brojnom stanju svinja u okviru mjera sprječavanja pojave i unosa virusa afričke svinjske kuge određenih Naredbom o mjerama za sprječavanje pojave i rano otkrivanje unosa virusa afričke svinjske kuge u Republici Hrvatskoj (ANONYMOUS, 2019.; ANONYMOUS, 2021.). Sukladno članku 2. predmetne Naredbe svako gospodarstvo koje drži svinje mora biti kategorizirano u odnosu na biosigurnost.

Kategorizacija se provodila sukladno Uputi Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane, a sami postupak podrazumijevao je posjetu ovlaštenog veterinara gospodarstvu, pregled gospodarstva i objekata u kojima se drže svinje, pregled svinja i evidencije. Ovlašteni veterinari su pri pregledu ispunjavali upitnik od ukupno 95 pitanja podijeljenih u devet grupa:

- identifikacija, registracija i sljedivost
- zdravlje životinja, pojava bolesti i uginuća
- deratizacija i zaštita od štetnika
- reprodukcija i prijevoz
- način držanja
- otvoreni sustavi držanja
- minimalne mjere biosigurnosti ovisno o broju svinja na gospodarstvu
- ostali uvjeti i hranidba
- zbrinjavanje stajskog gnoja.

U VETIs-u je uspostavljena posebna aplikacija „Kategorizacija“ koja je automatski izračunavala kategoriju gospodarstva prema unesenim podacima, odnosno odgovorima. Pojedina pitanja označena su oznakom „X.“ kao eliminacijska te su gospodarstva s negativnom ocjenom na tim pitanjima automatski kategorizirana kao kategorija 1, odnosno nezadovoljavajuća.

Gospodarstva su kategorizirana u pet kategorija:

- Kategorija „0“ – gospodarstva koja drže jednu tovnu svinju za vlastite potrebe

- Kategorija „1“ – gospodarstva koja ne udovoljavaju uvjetima
- Kategorija „2“ – gospodarstva koja djelomično udovoljavaju uvjetima
- Kategorija „3“ – gospodarstva koja u potpunosti udovoljavaju uvjetima
- Kategorija „4“ – gospodarstva koja drže svinje na otvorenome i koja su odobrena od veterinarskog inspektora.

Pitanja iz upitnika te mogući odgovori i njihovo vrednovanje u smislu udovoljavanja uvjetima prikazani su u Prilogu 3. Detaljna pojašnjenja za ovlaštene veterinare o načinu procjene pojedinih uvjeta dana su u Uputi Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane. U analizi rizičnih čimbenika obuhvaćeno je 84 pitanja.

Na dan 31.12.2021. kategorizirano je 72.144 gospodarstava s 1.257.753 svinja u trenutku kategorizacije.

Od 72.144 ukupno kategoriziranih gospodarstava u analizu utvrđivanja rizičnih čimbenika bilo je uključeno 30.687 kategoriziranih gospodarstava na kojima je bilo provedeno barem jedno pretraživanje na bolest Aujeszkoga.

4.3.2. Epidemiološko istraživanje i mjere kontrole na pozitivnim gospodarstvima

Temeljem Programa nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima pozitivnim na bolest Aujeszkoga provodilo se epidemiološko istraživanje u okviru postupanja veterinarskih inspektora. Epidemiološko istraživanje obuhvaćalo je podatke o gospodarstvima u svrhu utvrđivanja mogućeg izvora zaraze, odnosno vjerojatnog puta unosa virusa bolesti Aujeszkoga. Prilikom posjete gospodarstvu veterinarski inspektori sačinjavali su zapisnik u koji je bilo uključeno epidemiološko istraživanje. Na temelju utvrđenog činjeničnog stanja i rezultata epidemiološkog istraživanja, veterinarski inspektori donosili su plan iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga te su rješenjem određivali mjere kontrole bolesti sukladno Programu nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga, Pravilnika o mjerama kontrole, suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga (ANONIMUS, 2012.) te Odluci Komisije od 21. veljače 2008. o dodatnim jamstvima u trgovini svinjama unutar Zajednice vezano uz bolest Aujeszkoga i kriterijima za dostavu informacija o bolesti (2008/185/EZ) (ANONIMUS, 2008.).

4.4. Statistička obrada podataka i analiza rizičnih čimbenika

4.4.1. Statistička analiza i procjena rizičnih čimbenika

Podaci o populaciji svinja i gospodarstvima tj. broj svinja na gospodarstvima u pojedinim županijama, po pojedinim kategorijama i veličini gospodarstva opisan je osnovnim parametrima deskriptivne statistike iz koje se vidi prosječan broj svinja (mean) minimalan i maksimalan broj svinja te odstupanja od srednje vrijednosti (standardna devijacija - SD). Uz osnovnu deskriptivnu statistiku, u statističkoj analizi koristile su se metode za raspodjelu frekvencija, analizu distribucija te testove za procjenu značajnosti.

Ovisno o značajkama pojedine varijable, tipu podatka (kvalitativni ili kvantitativni) i distribuciji (normalna ili druge distribucije), za testiranje značajnosti razlika između varijabli korišteni su testovi značajnosti parametrijske statistike, t.test i ANOVA (za normalno distribuirane uzorke), Mann-Whitneyev test za testiranje dvije skupine varijabli te neparametrijske statistike i ANOVA test, $\chi 2$ test i Kruskal-Wallisov test za višestruku analizu. Za binarne i kategoričke varijable statistički značajne razlike u prevalenciji među skupinama procijenjene su pomoću hi-kvadrat statistike za više od dvije uključene skupine i Fisherovog točnog testa samo za dvosmjerne usporedbe. Za podatke koji su obrađeni na razini uzorka, egzaktnim binomialnim testom procijenjene su granice pouzdanosti uzimajući u obzir 95% interval pouzdanosti (confidence interval, CI 95%) te su se razlike pri $P < 0,05$ smatrale značajnima. U cilju procjene rezultata za populaciju, egzaktnim binomialnim testom izračunale su se granice pouzdanosti uzimajući u obzir razinu pouzdanosti procjene od 95% (CI 95%).

Podaci o testiranju su prostorno i vremenski obrađeni te prikazani po županijama za svaku godinu u razdoblju od 2013. do 2021. godine prema utvrđenoj prevalenciji. Kako bi se prikazala prostorna distribucija pozitivnih gospodarstava u Hrvatskoj korištenjem ArcGIS sustava su izrađene mape za svaku godinu istraživanog razdoblja.

Analiza rizičnih čimbenika zasnivala se na podacima prikupljenim u okviru kategorizacije gospodarstava prema upitniku (Prilog 3) koji obuhvaća pitanja primarno vezano za opće uvjete biosigurnosti koji su primjenjivi za bolesti svinja. Stoga se analizom rezultata željelo ustanoviti koji se čimbenici mogu povezati s gospodarstvima na kojima su ustanovljene svinje serološki pozitivne na bolest Aujeszkoga (u daljnjem tekstu: pozitivna gospodarstva). Procjena rizičnih čimbenika za bolest Aujeszkoga uključivala je analizu 30.687 kategoriziranih gospodarstava na

kojima je provedeno barem jedno testiranje na bolest Aujeszkoga u 15 županija. Šest županija nije uzeto u obzir, Primorsko-goranska. Splitsko-dalmatinska, Šibensko-kninska i Ličko-Senjska zbog malog broja pregledanih gospodarstava, a Dubrovačko-neretvanska i Zadarska županija jer na njihovom području nije bilo gospodarstava koja su zadovoljavala kriterije.

Procjenu povezanosti izloženosti gospodarstva nekom od analiziranih čimbenika zasnivala se na usporedbi rezultata pozitivnih (ustanovljena barem jedna serološki pozitivna životinja) i negativnih gospodarstava (gospodarstva na kojima nije nađena niti jedna seropozitivna životinja). Za testiranje razlika koristila se logistička regresijska analiza, a jačina povezanosti opisana je vjerojatnošću izloženosti infekciji povezanom s pozitivnim gospodarstvima, OR (engl. odds ratio), (HOSMER i LEMESHOW, 2000.). Sve statističke analize provedene su korištenjem softvera STATISTICA 12 i EPITOOLS.

4.4.2. Izrada modela za praćenje dinamike infekcije i procjene rizičnih čimbenika

Za procjenu dinamike infekcije tijekom vremena u ovisnosti o rizičnim čimbenicima izrađen je metaregresijski model koji je uključivao longitudinalne podatke seroprevalencije kroz kalendarsko razdoblje od 9 godina i koji omogućuje kontinuirano praćenje diskretne varijable bolesti Aujeszkoga na svinjogojskim gospodarstvima na području Republike Hrvatske u ovisnosti o rizičnim čimbenicima, odnosno njegovu dinamiku kretanja ovisno o relevantnim rizičnim čimbenicima. Praćenje je provedeno nizom višestrukih posjeta gospodarstvima (1-7) kroz kalendarsko razdoblje od 9 godina (2013. - 2021.). Izlazni podaci su opisani kao postotak zaraženih životinja (pozitivnih uzoraka), standardna devijacija postotka zaraženih životinja (pozitivnih uzoraka), broj zaraženih gospodarstava, postotak zaraženih gospodarstava te prosječan broj zaraženih životinja (pozitivnih uzoraka) po gospodarstvima. Agregiranje i statistička obrada rezultata je napravljeno u međuovisnosti s vrijednostima seta zadanih varijabli koje se odnose na stanje zatečeno prilikom svakog od posjeta kako bi se dobile vjerojatnosti pojedinih statusa te očekivano rasipanje rezultata na gospodarstvima prilikom određenog rednog broja posjeta i vrijednosti odabranih varijabli koje odgovaraju trenutnom stanju pojedinog gospodarstva, što uključuje uvjete:

$$P\ (\mu\text{-}1\sigma \leq X \leq \mu + 1\sigma) = 68{,}27\%$$

$$P\ (\mu\text{-}2\sigma \leq X \leq \mu + 2\sigma) = 95{,}45\%$$

$$P\ (\mu\text{-}3\sigma \leq X \leq \mu + 3\sigma) = 99{,}73\%$$

$$P\ (X \leq \mu + 1\sigma) = 84{,}13\%$$

$$P\ (X \leq \mu + 2\sigma) = 97{,}72\%$$

$$P\ (X \leq \mu + 3\sigma) = 99{,}87\%$$

$$P\ (X \leq \mu) = 50\% = P\ (X \geq \mu=)$$

pri čemu P u ovoj formuli označava prevalenciju, X srednju vrijednost uzorka, μ srednju vrijednost populacije i σ standardnu devijaciju.

U cilju procjene očekivanja djelovanja čimbenika na testiranim gospodarstvima, model je uključivao sve čimbenike, ali su u radu prezentirani čimbenici za koje se ustanovila znatna povezanost s pozitivnim gospodarstvima (OR veći od 1,5, $P < 0{,}05$), a koji su važni s gledišta biosigurnosti i sumirani u Tablici 30. Na temelju jačine djelovanja čimbenika i broja pozitivnih gospodarstava u pojedinom vremenu testiranja, modelom su prikazane vjerojatnosti pojedinih statusa te očekivano rasipanje rezultata u budućem vremenu. Radi jednostavnijeg izražavanja i opisa, u modelu su sva pozitivna gospodarstva označena kao zaražena.

4.4.3. Izrada modela za procjenu međusobnih interakcija rizičnih čimbenika

Za procjenu međudjelovanja rizičnih čimbenika (varijabli) izrađen je model koji na temelju izvornih podataka praćenja stanja na gospodarstvima u razdoblju od 2013. do 2021. godine i kroz više posjeta (maksimalno 9) omogućava očitavanje snage utjecaja pojedinačne varijable i interakcije između dvije odabrane od ukupno 84 neovisnih varijabli iz upitnika. Model omogućuje da se utjecaj svake od odabranih varijabli i njihova međusobna interakcija može neovisno lako očitati za bilo koju kombinaciju kategorije gospodarstva i rednog broja posjeta. Model je izrađen u programu napisanim specifično za tu namjenu u programskom jeziku C#.

5. REZULTATI

5.1. Populacija

Brojno stanje svinja i gospodarstava sa svinjama prikazano je u Tablicama 5. i 6. U Tablici 5. prikazani su podaci prikupljeni tijekom prve kategorizacije na svakom gospodarstvu. Gospodarstva su podijeljena prema kategorijama ovisno o razini biosigurnosti te su unutar svake kategorije deskriptivnom statističkom metodom izračunate srednje (mean), minimalne (minimum), makismalne (maximum) i medijane (median) vrijednosti te standardna devijacija (SD). Najveća standardna devijacija (963,34) uočena je unutar kategorije 3, a najmanja (24,93) unutar kategorije 1. Standardna devijacija se smanjuje u odnosu na stanje na dan 31.12.2021. (Tablica 6.) kada je uzeta u obzir zadnja kategorizacija na svakom gospodarstvu u svim kategorijama osim u kategoriji 4 u kojoj je porasla sa 90,04 na 319,96. Također je vidljiva i promjena broja gospodarstava po pojedinim kategorijama što je posljedica unaprjeđenja uvjeta na samim gospodarstvima i njihovog prelaska u višu kategoriju. To je posebno vidljivo za kategoriju 1 i 2 te za kategoriju 4. Udio gospodarstava kategorije 1 smanjen je sa 45,51% na 35,15% u ukupnom broju gospodarstava. Ovaj podatak ukazuje na poboljšanje uvjeta na gotovo 10.000 gospodarstava koji su uglavnom unaprjeđeni u kategoriju 2 ili u manjem broju u kategoriju 3.

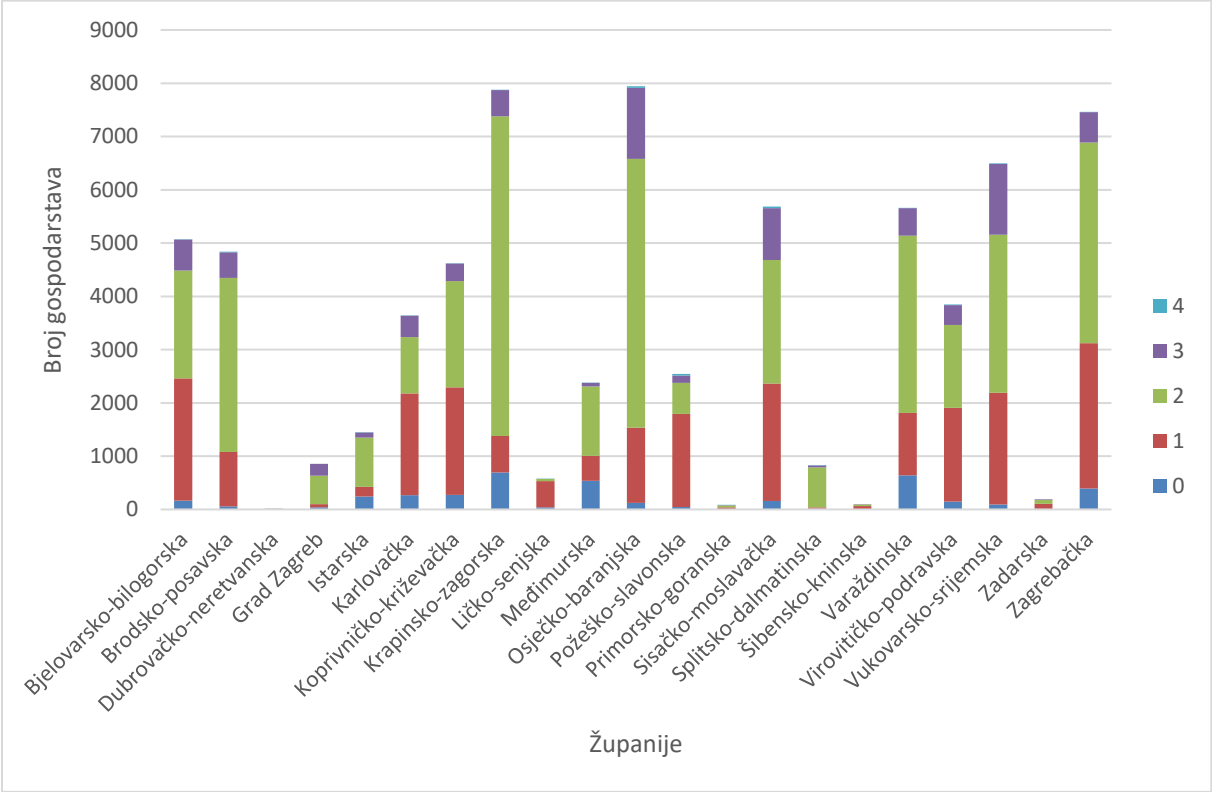
Tablica 5. Brojno stanje prilikom prve kategorizacije

Kategorija	Broj gospodarstava	Broj svinja	Mean	Minimum	Maximum	Median	SD
0	3.960	3.960	1	1	1	1	
1	32.833	365.624	11	1	1.990	6	24,93
2	30.078	398.453	13	1	11.530	4	100,80
3	5.207	460.600	88	1	31.159	4	963,34
4	66	3.161	48	2	675	26	90,04
Ukupno	72.144	1.231.798					

Tablica 6. Brojno stanje na dan 31.12.2021.

Kategorija	Broj gospodarstava	Broj svinja	Mean	Minimum	Maximum	Median	SD
0	3.953	3.953	1	1	1	1	
1	22.472	172.818	8	1	980	4	14,56
2	37.587	549.055	15	1	11.530	5	87,05
3	7.956	517.598	65	1	31.159	6	782,53
4	176	14.329	81	2	4.030	32	319,96
Ukupno	72.144	1.257.753					

Prikaz distribucije (broja) gospodarstava prema kategorijama i županijama na dan 31.12.2021. vidljiv je na Slici 22. Najveći ukupni broj gospodarstava je u Osječko-baranjskoj i Krapinsko-zagorskoj županiji, dok je najveći broj gospodarstava kategorije 2 u Krapinsko-zagorskoj županiji. Osječko-baranjska i Vukovarsko-srijemska županija imaju najveći broj gospodarstava kategorije 3.



Slika 15. Distribucija gospodarstava prema kategorijama i županijama

U primorskim i južnim županijama značajno je manji broj gospodarstava i krmača (Tablica 7.).

Tablica 7. Distribucija gospodarstva po županijama i broju krmača

Županija	Broj gospodarstava	Broj svinja	Broj krmača
Bjelovarsko-bilogorska	5072	83602	10524
Brodsko-posavska	4839	116557	7261
Dubrovačko-neretvanska	8	34	0
Grad Zagreb	854	8717	738
Istarska	1447	7639	264
Karlovačka	3644	22851	2168
Koprivničko-križevačka	4617	81567	10735
Krapinsko-zagorska	7876	36563	2784
Ličko-senjska	577	2570	198
Međimurska	2379	38272	2139
Osječko-baranjska	7946	347447	28654
Požeško-slavonska	2544	37912	3658
Primorsko-goranska	80	686	60
Sisačko-moslavačka	5683	57982	7259
Splitsko-dalmatinska	827	6622	557
Šibensko-kninska	93	1373	189
Varaždinska	5660	55533	5428
Virovitičko-podravska	3849	41053	4347
Vukovarsko-srijemska	6496	199114	16082
Zadarska	187	1903	240
Zagrebačka	7466	109756	10382
Ukupni zbroj	72144	1257753	113667

5.2. Rezultati serološkog pretraživanja svinja na bolest Aujeszkoga

U ovu analizu uključeni su svi rezultati testiranja na bolest Aujeszkoga u istraživanom razdoblju od 1.1.2013. do 31.12.2021. godine. Ukupno je pretraženo 219.974 uzoraka od čega je 3.815 uzoraka bilo pozitivno. Pregled ukupno pretraženih uzoraka i udjela pozitivnih uzoraka po

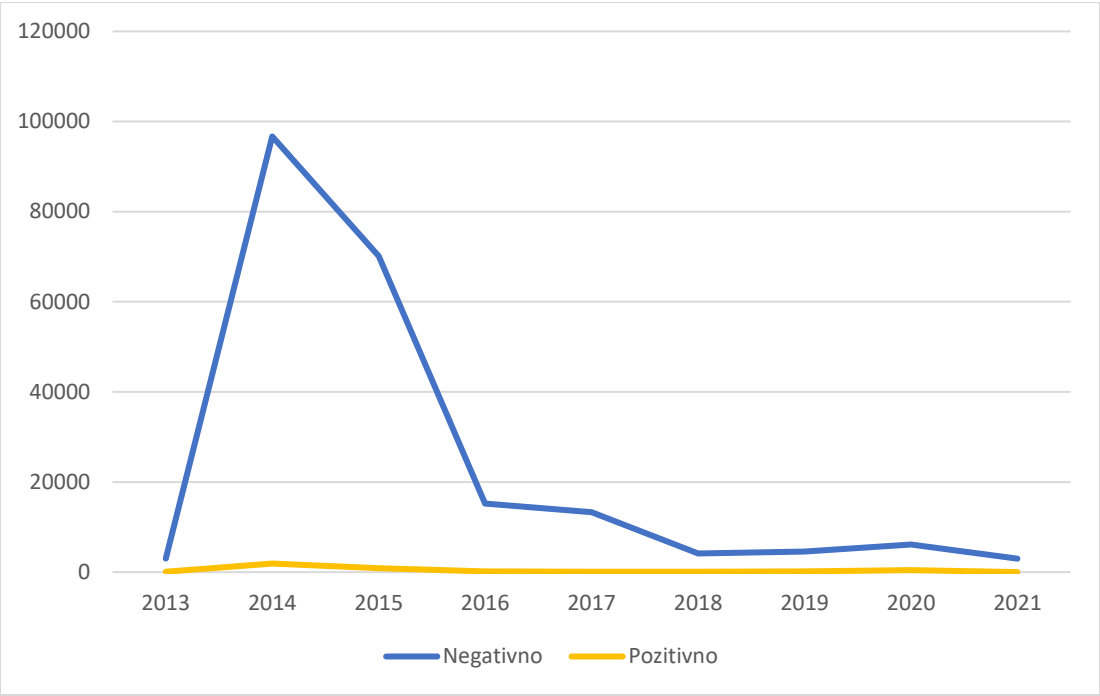
godinama i županijama vidljiv je u Tablici 8., dok je ukupni prikaz pretraživanja po gospodarstvima i broju uzoraka po županijama prikazan u Prilogu 4.

Tablica 8. Pregled pretraženih uzoraka po godinama

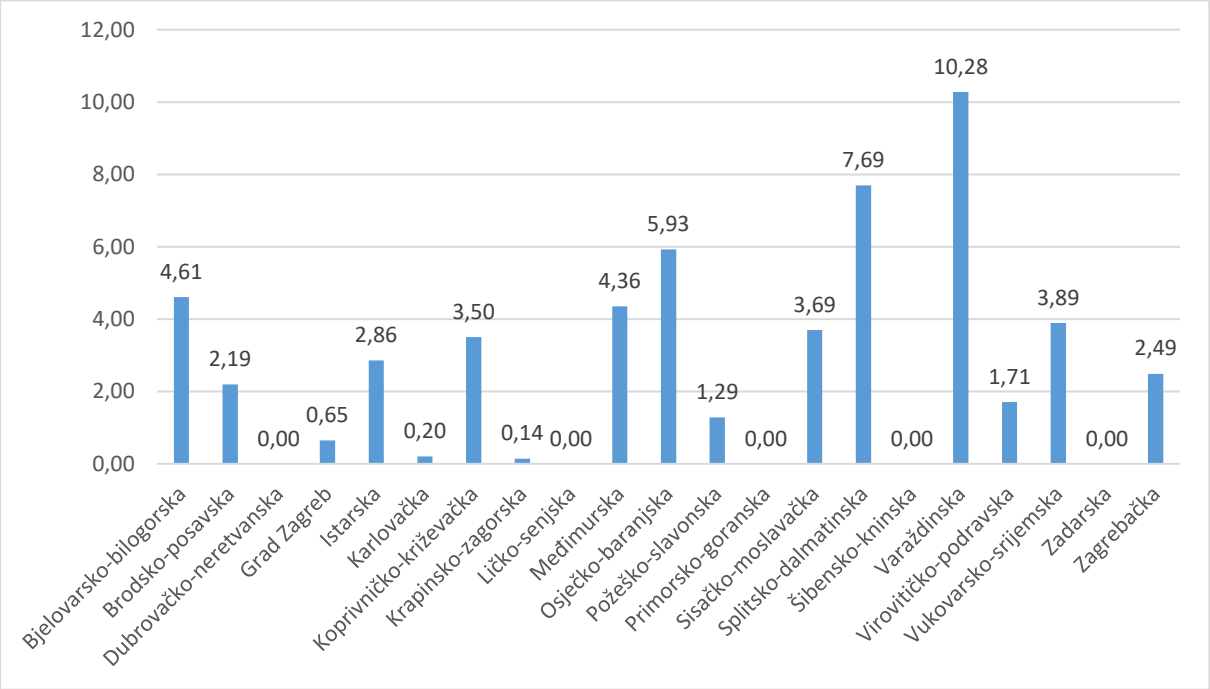
Broj uzoraka	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	Ukupno
Pretraženo	3074	98592	71031	15359	13376	4226	4746	6568	3002	219974
Pozitivno	61	1901	904	148	105	86	150	448	12	3815
%	1,98	1,93	1,27	0,96	0,78	2,04	3,16	6,82	0,40	1,73

Dinamika rezultata pretraživanja uzoraka kroz godine prikazana je na Slici 16. Najveći broj uzoraka uzet je tijekom 2014. (98.582) i 2015. (71.031) godine s udjelom pozitivnih uzoraka manjim od 2% (Tablica 8.). Najveći udio pozitivnih uzoraka (6,82%) utvrđen je u 2020. godini no prilikom tumačenja ovakvog povećanja treba u obzir uzeti i ukupan broj pozitivnih gospodarstava i pozitivnih uzoraka unutar njih. Od 9 pozitivnih gospodarstava, čak 421 pozitivni uzorak potječe sa samo jednog gospodarstva u Osječko-baranjskoj županiji.

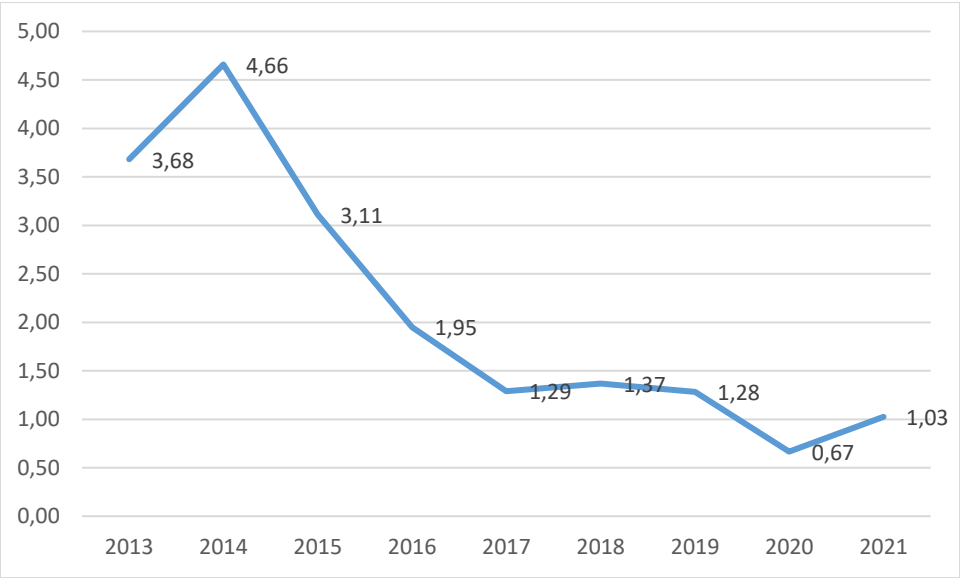
Ukupni udio pozitivnih gospodarstava prikazan je na Slici 17. Udio pozitivnih gospodarstava iznad 5% zabilježen je u Varaždinskoj županiji (10,28%), Splitsko-dalmatinskoj (7,69%) i Osječko-baranjskoj županiji (5,93%), dok je u ostalim pozitivnim županijama ispod 5% (Slika 17.). Vremenska distribucija udjela pozitivnih gospodarstava kroz godine iz koje je vidljivo opadanje kroz godine prikazano je na Slici 18.



Slika 16. Dinamika rezultata pretraživanja uzoraka po godinama



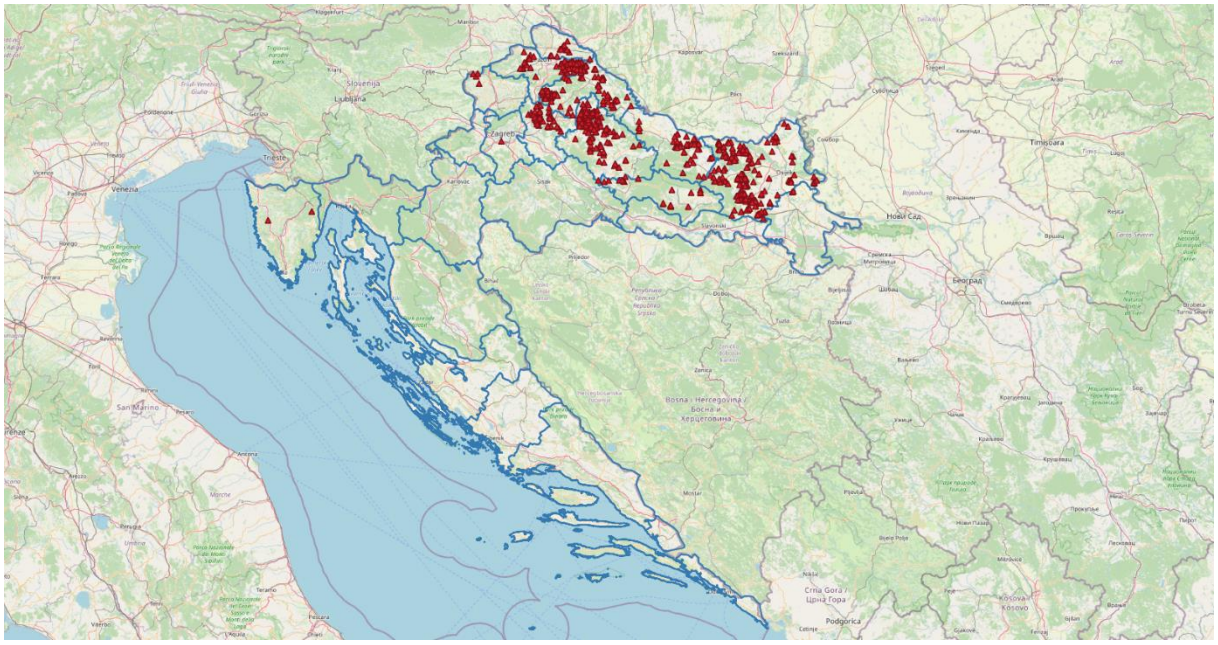
Slika 17. Ukupni udio pozitivnih gospodarstava po županijama



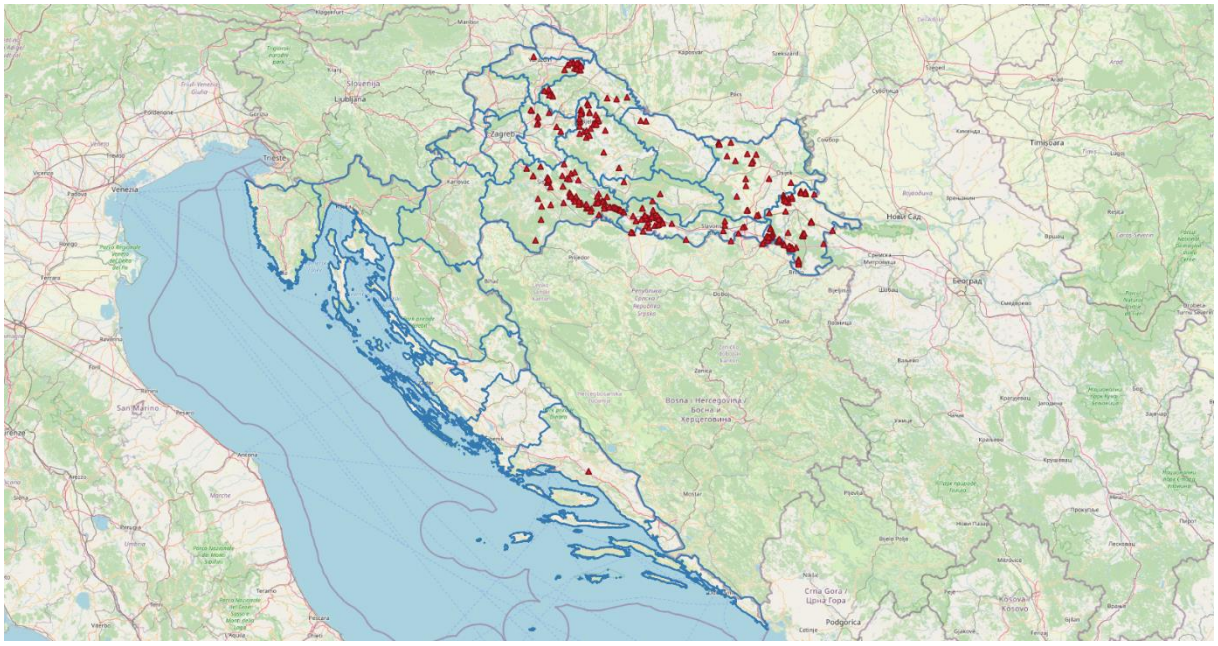
Slika 18. Udio pozitivnih gospodarstava po godinama

Prostorna distribucija pozitivnih gospodarstava pokazuje lokaciju pozitivnih gospodarstava po godinama (Slike 19. – 27.). Iz gustoće pozitivnih gospodstava također je vidljivo da je najveći broj pozitivnih gospodarstava utvrđen tijekom 2014. godine kada je i provedeno prvo sveobuhvatno nadziranje s 21.915 pretraženih gospodarstava (Slika 18.).

Slika 19. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2013. godini

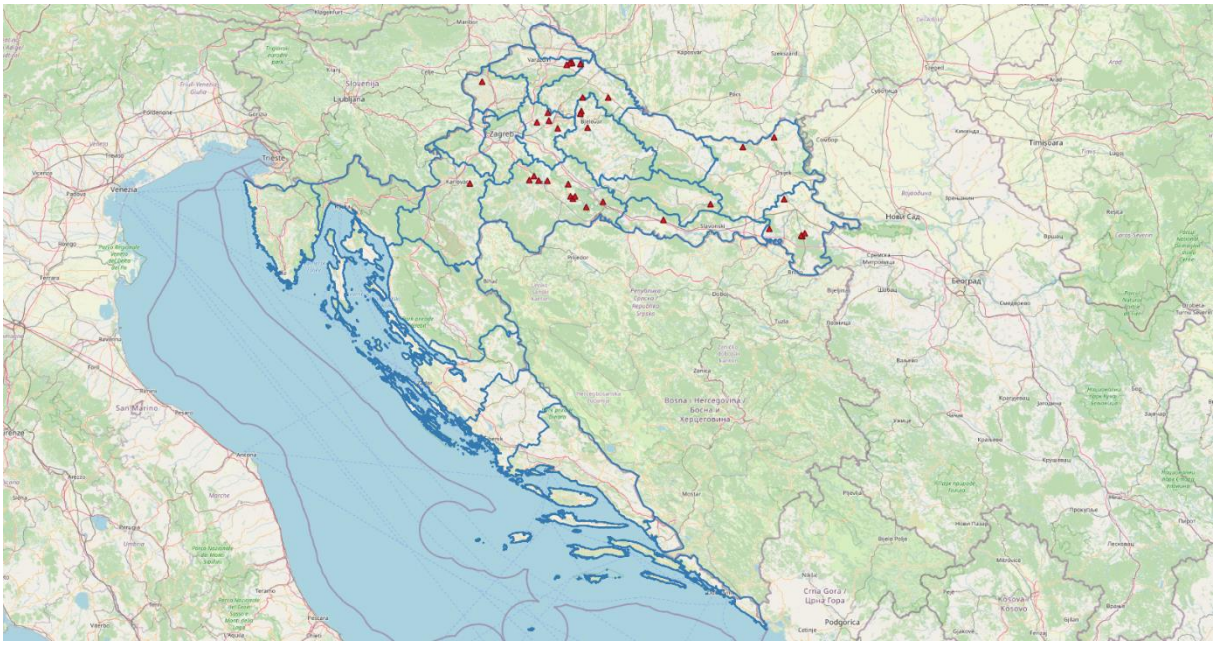


Slika 20. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2014. godini

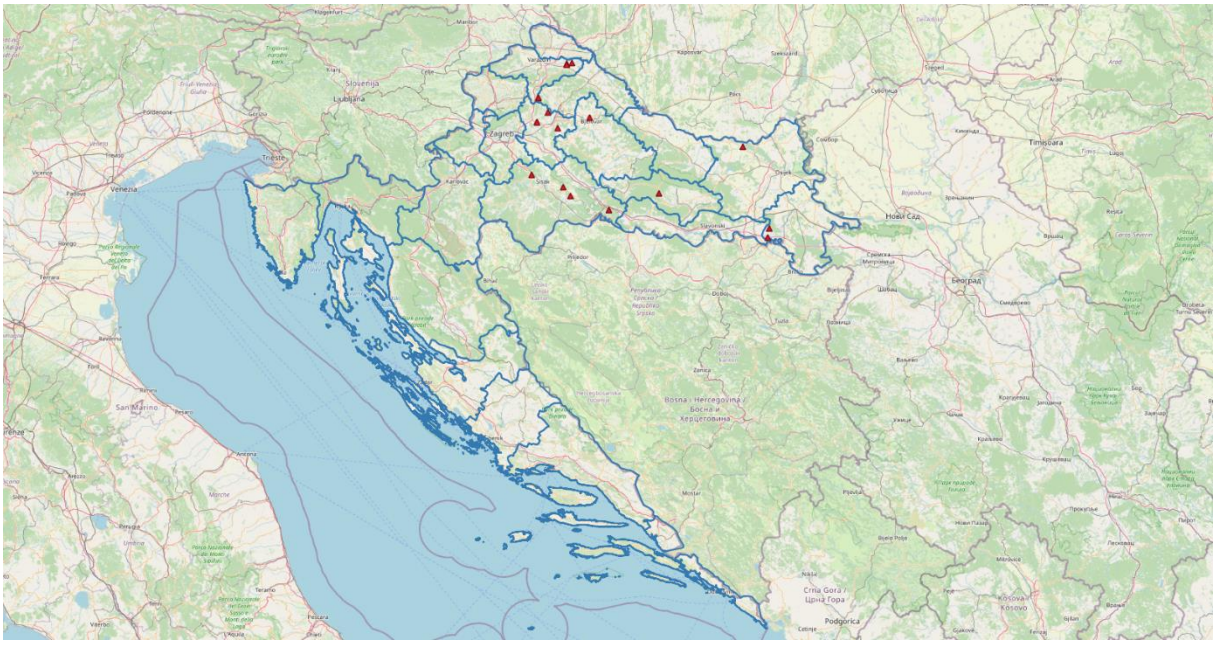


Slika 21. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2015. godini

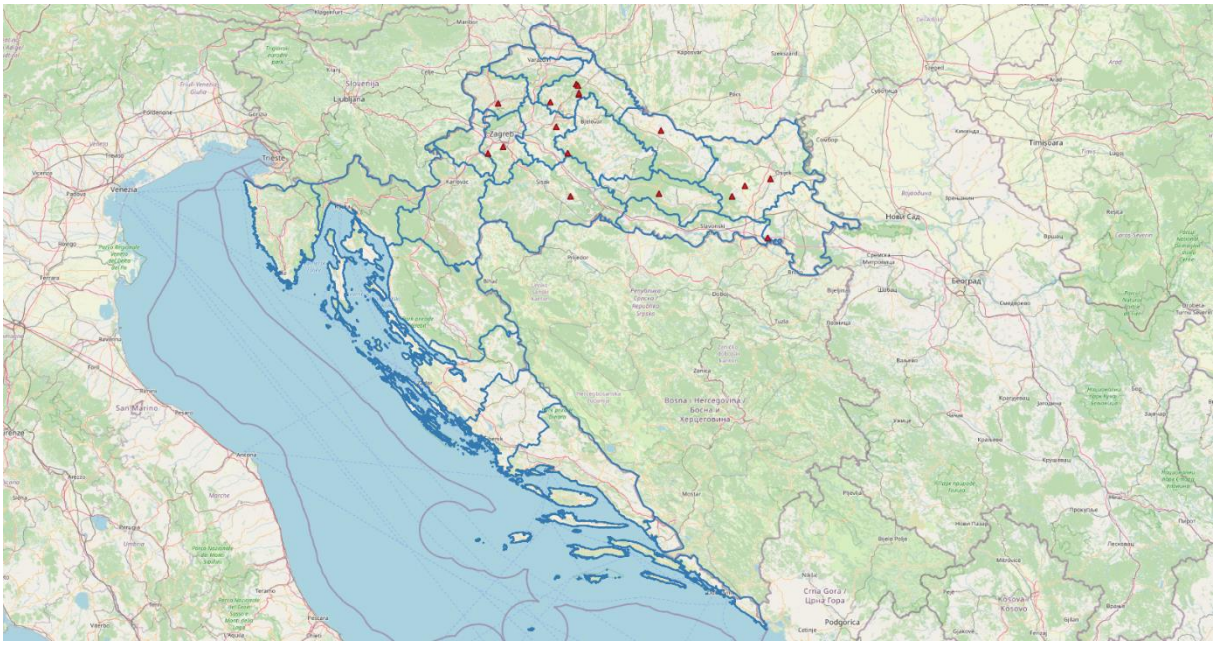
Slika 22. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2016. godini



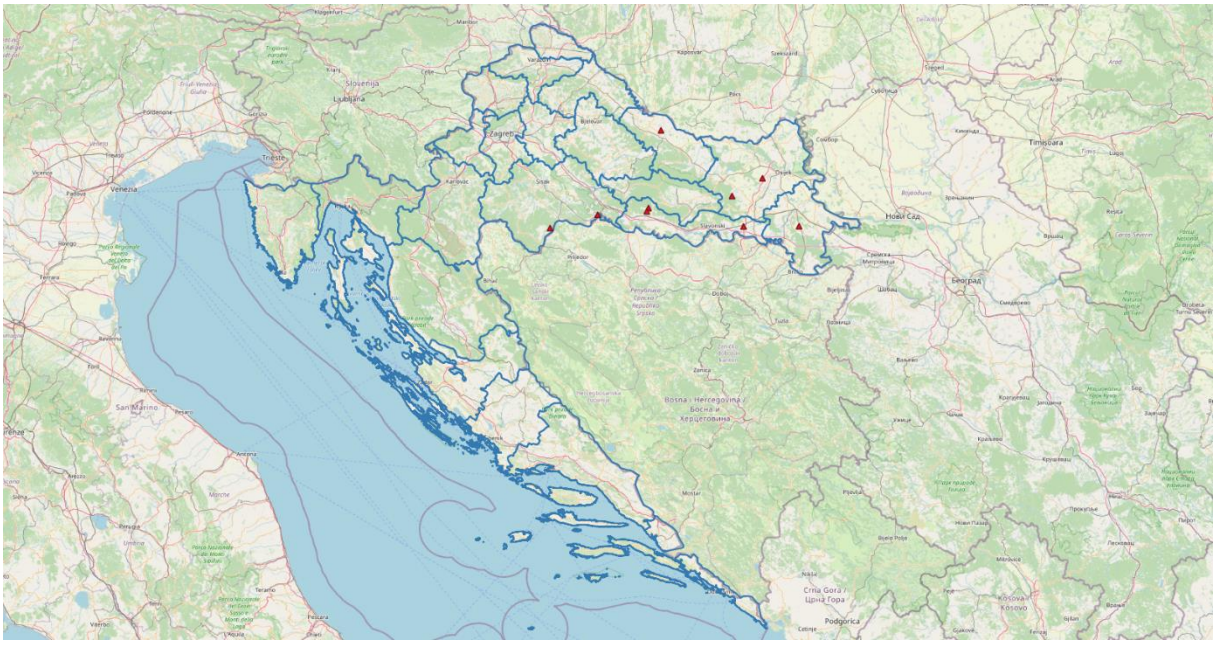
Slika 23. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2017. godini



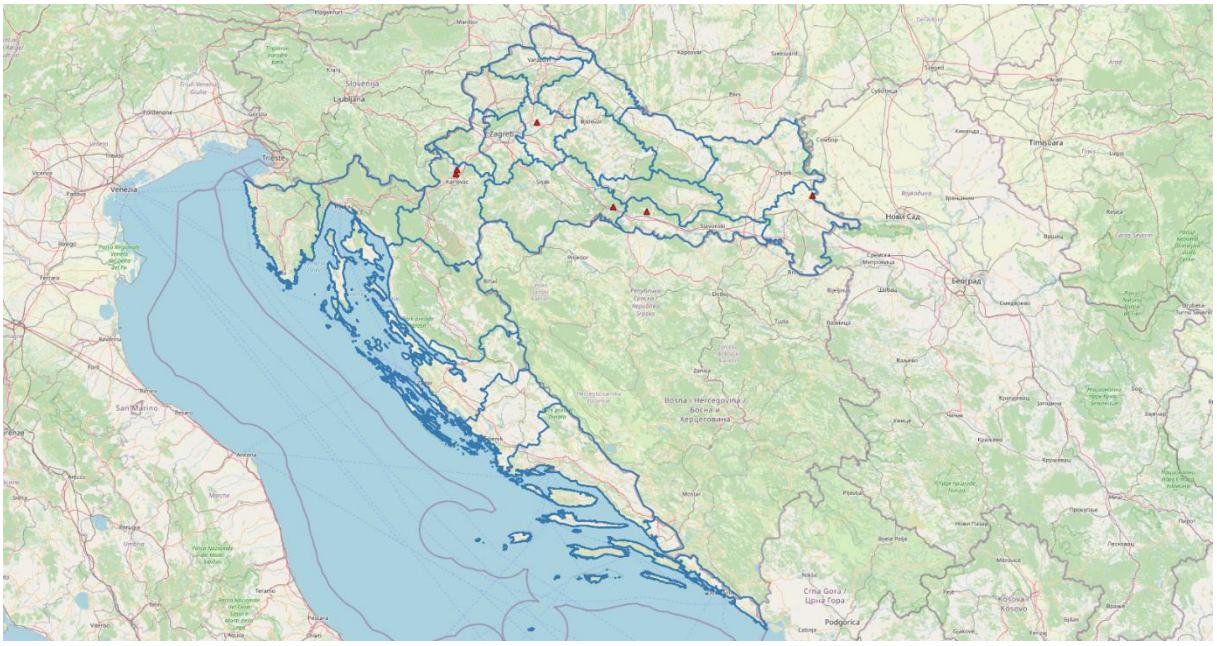
Slika 24. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2018. godini



Slika 25. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2019. godini



Slika 26. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2020. godini



Slika 27. Prostorni prikaz pozitivnih gospodarstava u 2021. godini

5.3. Rezultati molekularnog pretraživanja svinja na bolest Aujeszkoga

Tablica 9. Pregled uzoraka od domaćih svinja pretraženih PCR metodom

Vrsta uzorka	2013.	2014.	2015.	2016.	2017.	2018.	2019.	2020.	2021.	Ukupno
Krv	7		3				38	2		50
Krv i organi	5	1								6
Organi ploda	11	255	21	8	11	25	112	38	63	544
Pobačeni plod		1					16	2	3	22
Posteljica				1		1	5	3	9	19
Organi svinje	48*	54	1	4		16		3	5	131
Bris		21	20	4		2				47
Moždano tkivo	4	2		11	1					18
Tonzile/svinja	1									1
Ukupno	76	334	45	28	12	44	171	48	80	838

*U uzorcima organa dvije svinje potvrđen virus bolesti Aujeszkoga

U istraživanom razdoblju, virus bolesti Aujeszkoga potvrđen je samo u uzorcima podrijetlom od dvije svinje tijekom 2013. godine (Tablica 9.), nakon čega virus nije dokazan u populaciji domaćih svinja, a što ujedno i odgovara rezultatima epidemiološkog istraživanja kojima nisu utvrđeni klinički znakovi bolesti.

5.4. Analiza rizičnih čimbenika i procjena jačine povezanosti rizičnih čimbenika s pojavom bolesti Aujeszkoga

Analiza rizičnih čimbenika zasnivala se na podacima prikupljenim u okviru kategorizacije gospodarstava prema upitniku (Prilog 3) koji obuhvaća pitanja primarno vezano za minimalne opće uvjete biosigurnosti. Stoga se analizom rezultata željelo ustanoviti koji se čimbenici mogu povezati s gospodarstvima na kojima su ustanovljene svinje serološki pozitivne na bolest Aujeszkoga (u daljnjem tekstu: pozitivna gospodarstva). Procjena rizičnih čimbenika za bolest Aujeszkoga uključivala je analizu 30.687 kategoriziranih gospodarstava na kojima je provedeno barem jedno testiranje na bolest Aujeszkoga s područja 15 županija. Četiri županije, Ličko-senjska, Primorsko-goranska, Splitsko-dalmatinska i Šibensko-kninska županija zbog malog broja gospodarstava (manje od 10) nisu uzete u obzir, dok Dubrovačko-neretvanska i Zadarska županija nisu uzete u obzir jer na njihovom području nije bilo gospodarstava koji su zadovoljavali kriterije

(kategorizirana i barem jednom testirana gospodarstva). Usporedba broja uzoraka i rezultata testiranja između ukupnog broja testiranih gospodarstva i onih gospodarstava koja su bila uključena u analizu rizičnih čimbenika (u daljnjem tekstu: analizirana gospodarstva), vidljiva je u Tablici 10.

Tablica 10. Usporedba rezultata ukupnog broja testiranih gospodarstava i gospodarstava obuhvaćenih analizom

Županija	Sva gospodarstva			Analizirana gospodarstva		
	Testirano	Pozitivno	% poz.	Testirano	Pozitivno	% poz.
Bjelovarsko-bilogorska	5428	250	4,61	3092	178	5,76
Brodsko-posavska	3375	74	2,19	2495	57	2,28
Dubrovačko-neretvanska	5	0	0,00	n/a	n/a	n/a
Grad Zagreb	462	3	0,65	273	3	1,10
Istarska	105	3	2,86	47	2	4,26
Karlovačka	1485	3	0,20	828	2	0,24
Koprivničko-križevačka	5114	179	3,50	3028	132	4,36
Krapinsko-zagorska	4161	6	0,14	2692	4	0,15
Ličko-senjska	14	0	0,00	n/a	n/a	n/a
Međimurska	597	26	4,36	343	19	5,54
Osječko-baranjska	6698	397	5,93	4479	276	6,16
Požeško-slavonska	2174	28	1,29	1298	20	1,54
Primorsko-goranska	13	0	0,00	n/a	n/a	n/a
Sisačko-moslavačka	3735	138	3,69	2492	102	7,46
Splitsko-dalmatinska	13	1	7,69	n/a	n/a	n/a
Šibensko-kninska	13	0	0,00	n/a	n/a	n/a
Varaždinska	2510	258	10,28	1647	200	12,14

Virovitičko-podravska	3283	56	1,71	1860	45	2,42
Vukovarsko-srijemska	4703	183	3,89	3340	144	4,31
Zadarska	1	0	0,00	n/a	n/a	n/a
Zagrebačka	4216	105	2,49	2773	72	2,60
Ukupno	48105	1710	3,55	30687	1256	4,09

Procjenu povezanosti izloženosti gospodarstva nekom od analiziranih čimbenika zasnivala se na usporedbi rezultata pozitivnih (ustanovljena barem jedna serološki pozitivna svinja) i negativnih gospodarstava (gospodarstva na kojima nije ustanovljena niti jedna seropozitivna svinja).

Tablica 11. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po županijama

Županije	Gospodarstva		
	Testirana	Pozitivna	
	N	N	%
Bjelovarsko-bilogorska	3092	178	5,76[2]
Brodsko-posavska	2495	57	2,28
Grad Zagreb	273	3	1,1
Sisačko-moslavačka	2492	102	7,46
Varaždinska	1647	200	12,14*
Virovitičko-podravska	1860	45	2,42
Vukovarsko-srijemska	3340	144	4,31
Zagrebačka	2773	72	2,6
Istarska	47	2	4,26
Karlovačka	828	2	0,24
Koprivničko-križevačka	3028	132	4,36
Krapinsko-zagorska	2692	4	0,15[1,2]
Međimurska	343	19	5,54
Osječko-baranjska	4479	276	6,161
Požeško-slavonska	1298	20	1,54
Ukupno	30687	1256	4,09

[1, 2] $P < 0,01$;

* $P < 0,01$ Varaždinska županija u odnosu na ostale županije i Krapinsko-zagorska županija u odnosu na županije s prevalencijom većom od 1%

Za testiranje razlika koristila se logistička regresijska analiza, a jačina povezanosti opisana je vjerojatnošću izloženosti infekciji povezanom s pozitivnim gospodarstvima - OR (engl. odds ratio). Kako je i izloženost povezana sa serološki pozitivnim gospodarstvima, najprije je analizirana prevalencija bolesti Aujeszkoga analiziranih gospodarstava, što je prikazano u Tablici 11. Kako je razvidno iz Tablice 11., prosječna prevalencija u analiziranih gospodarstava na razini Hrvatske bila je 4,09%. Prevalencija niža od prosjeka ustanovljena je u 7 (46,67%) županija: Krapinsko-zagorskoj 0,15%, Karlovačkoj 0,24%, Gradu Zagrebu 1,10%, Požeško-slavonskoj 1,54%, Virovitičko-podravskoj 2,42%, Brodsko-posavskoj 2,28% i Zagrebačkoj 2,60%. Najveća prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava bila je značajno veća u Varaždinskoj županiji (12,14%) u odnosu na ostale županije gdje se kretala od 0,15% (Krapinsko-zagorska) do 7,46% (Sisačko-moslavačka) ($P < 0,01$). Također su nađene značajne razlike u broju pozitivnih gospodarstava između Krapinsko-zagorske županije gdje je nađena najmanja prevalencija (0,15 %) u odnosu na županije s prevalencijom većom od 1% ($P < 0,01$).

Sva gospodarstva koja drže svinje kategorizirana su prema biosigurnosnim uvjetima. Kategorije su dodijeljene od 0 (jedna tovna svinja za vlastite potrebe), 1 (gospodarstvo ne zadovoljava minimalne biosigurnosne uvjete), 2 (gospodarstvo djelomično zadovoljava biosigurnosne uvjete) do 3 (gospodarstvo u potpunosti udovoljava biosigurnosnim uvjetima) te je za gospodarstva koja drže svinje na otvorenome i koja su odobrena od veterinarskog inspektora dodijeljena kategorija 4.

U Tablici 12. prikazana je prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava prema pojedinoj dodijeljenoj kategoriji.

Tablica 12. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po kategorijama

	Gospodarstva		
Kategorija	Testirane	Pozitivne	
	N	N	%
0	551	19	3,44
1	16088	638	3,97
2	11890	504	4,24
3	2138	92	7,43
4	20	3	15,00*
Ukupno	30687	1256	4,09

* $P < 0,05$ kategorije 0, 1, 2 u odnosu na kategorije 3 i 4

Kako je razvidno iz Tablice 12. prevalencija na razini gospodarstava između kategorija kretala se od 3,44% (kategorija 0) do 15,00% (kategorija 4) dok je prosjek bio 4,09%. Prevalencija niža od prosjeka ustanovljena je u kategorijama 0 (3,44%) i 1 (3,97%), ali ta razlika nije bila značajna (P > 0,05). Kategorije 3 (7,43%) i 4 (15,00%) imale su prevalenciju znatno višu od prosjeka (P < 0,01). Statistički značajne razlike nađene su između kategorija 0, 1 i 2 u odnosu na kategorije 3 i 4 (P < 0,01).

U Tablici 13. prikazan je broj testiranih i pozitivnih gospodarstava prema veličini gospodarstva. Veličina gospodarstava određena je brojem držanih svinja: mala gospodarstva do 10 svinja, srednje velika gospodarstva od 11-100 svinja i velika gospodarstva s više od 100 svinja.

Tablica 13. Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava prema njihovoj veličini

Veličina gospodarstva	Gospodarstva			
	Testirane	Negativne	Pozitivne	
	N	N	N	%
Do 10 svinja	17125	16639	486	2,83[1]
11 – 100 svinja	13052	12323	729	5,59[1,2]
101 i više svinja	510	469	41	8,04[2]
Ukupno	30687	29431	1256	4,09

[1] P < 0,01 [2] P < 0,05

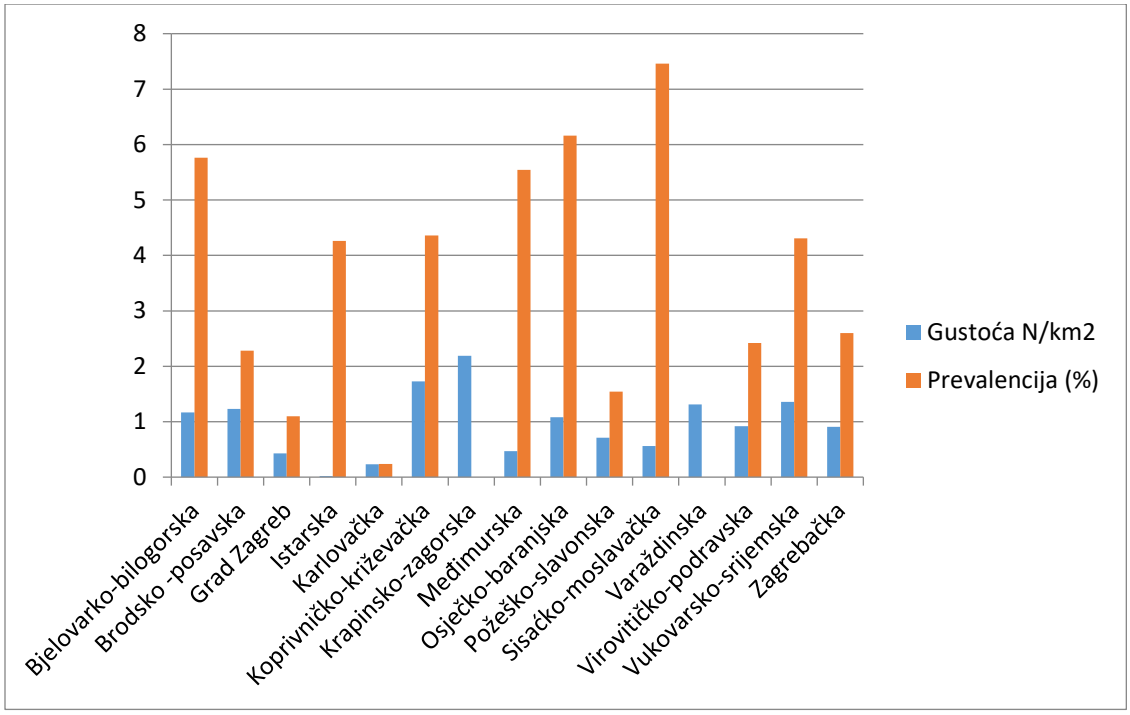
Iz Tablice 13. vidljivo je da je prevalencija viša od prosjeka nađena u skupini srednje velikih (5,59%) i velikih (8,04%) gospodarstava, dok je u skupini malih gospodarstava seropozitivnih gospodarstava bilo manje (P < 0,01). Također između skupina ustanovljene su statistički značajne razlike prema njihovoj veličini (P < 0,05). Prevalencija na razini velikih gospodarstava bila je 2,8 puta veća u odnosu na mala i 1,4 puta veća u odnosu na srednje velika gospodarstava (P < 0,01).

Jedan od važnih čimbenika u širenju zaraznih bolesti su broj i gustoća gospodarstava na nekom području kao i broj životinja na gospodarstvu. Broj svinja na gospodarstvima u pojedinim županijama, po pojedinim kategorijama i veličini gospodarstva opisan je osnovnim parametrima deskriptivne statistike iz koje se vidi prosječan broj svinja (mean) minimalan i maksimalan broj svinja te odstupanja od srednje vrijednosti (standardna devijacija - SD).

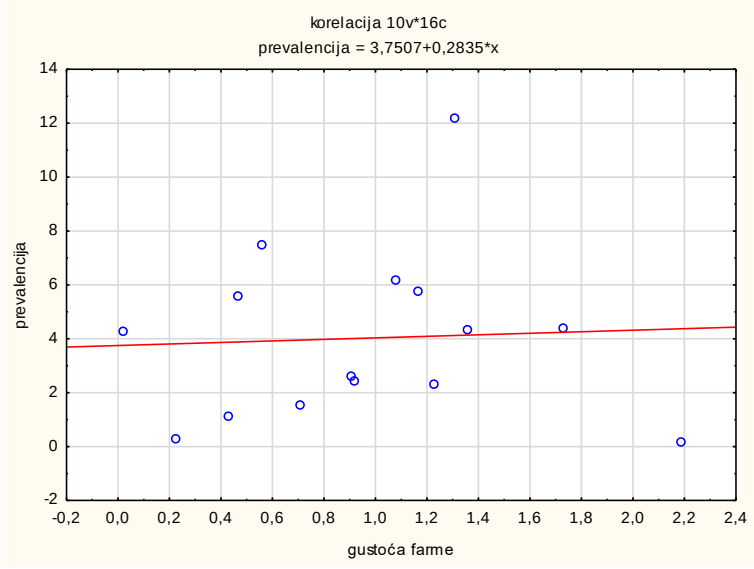
Broj i gustoća gospodarstava i svinja po županijama prikazani su u Prilogu 5 i 6.

Kako je vidljivo iz Priloga 5 postoji razlika u broju gospodarstava i broju svinja između županija. Najveći broj gospodarstava je u Osječko-baranjskoj (4479), Vukovarsko-srijemskoj (3340), Koprivničko-križevačkoj (3028) i Bjelovarsko-bilogorskoj (3090) županiji. Gustoća gospodarstava kreće se od 0,02 gospodarstava po km^2 u Istri pa do 2,19 gospodarstava po km^2 u Krapinsko-zagorskoj županiji. Uz Krapinsko-zagorsku županiju, gustoća svinja je nešto veća i u Koprivničko-križevačkoj (1,73 gospodarstava po km^2), Vukovarsko-srijemskoj (1,36 gospodarstava po km^2), Varaždinskoj (1,31 gospodarstava po km^2), Brodsko-posavskoj (1,23 gospodarstava po km^2) te Bjelovarsko-bilogorskoj (1,17 gospodarstava po km^2) u odnosu na druge županije ($P < 0,01$).

Kako je poznato da gustoća gospodarstava i životinja utječe na širenje infekcije, za očekivati je da županije s većom gustoćom gospodarstava imaju i veću prevalenciju bolesti Aujeszkoga. Međutim, uspoređujući gustoću gospodarstava i prevalenciju u pojedinim županijama razvidno je da ne postoji korelacija (koeficijent korelacije 0,21) (Slika 28.) između gustoće gospodarstava i prevalencije bolesti Aujeszkoga, a što je posebno uočljivo u Krapinsko-zagorskoj županiji koja ima najveću gustoću gospodarstava (2,19 po km2), a najmanju prevalenciju (0,15%), odnosno u Varaždinskoj koja ima 1,6 puta manje gospodarstava od Krapinsko-zagorske županije, a čak 80,93 puta veću prevalenciju. U županijama koje imaju veći broj gospodarstava i gustoću kao što su Osječko-baranjska (4479, 1,08 gospodarstava po km^2), Vukovarsko-srijemska (3340, 1,36 gospodarstava po km^2), Koprivničko-križevačka (3028, 1,73 gospodarstava po km^2) i Bjelovarsko-bilogorska (3090, 17 gospodarstava po km^2), ustanovljena je i viša prevalencija i to od 4,31 do 6,16%. Međutim i u županijama s otprilike 10 puta manjim brojem svinja, kao što je Međimurska (343) županija, prevalencija je bila slična (5,54%).

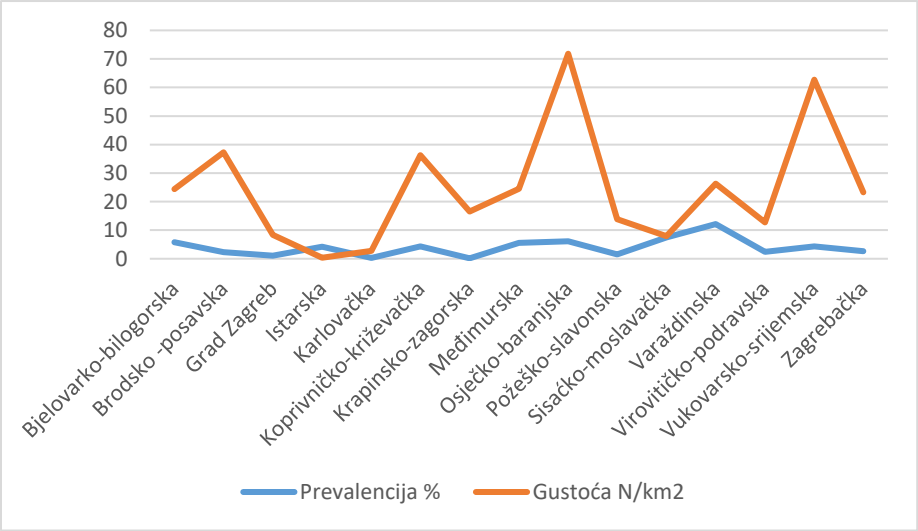


Slika 28. Usporedni prikaz gustoće gospodarstava i prevalencije gospodarstava po županijama

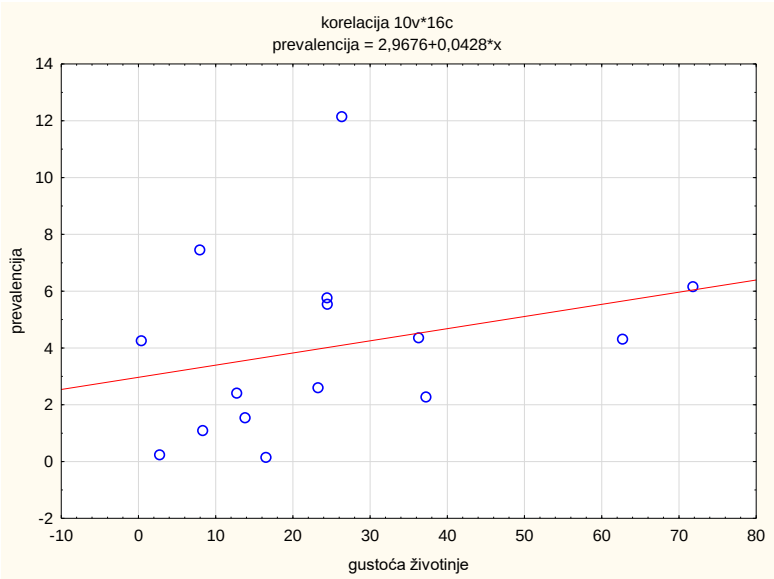


Slika 29. Korelacija gustoće gospodarstava i prevalencije gospodarstava po županijama (0,14, P>0,05)

Korelacija gustoće gospodarstava i prevalencije gospodarstava grafički je prikazana na Slici 29. Osim gustoće gospodarstava, važan čimbenik je i gustoća životinja. Usporedni prikaz gustoće gledano po broju svinja prikazan je na Slici 30., a korelacija između broja svinja u pojedinoj županiji i prevalenciji, na Slici 31.



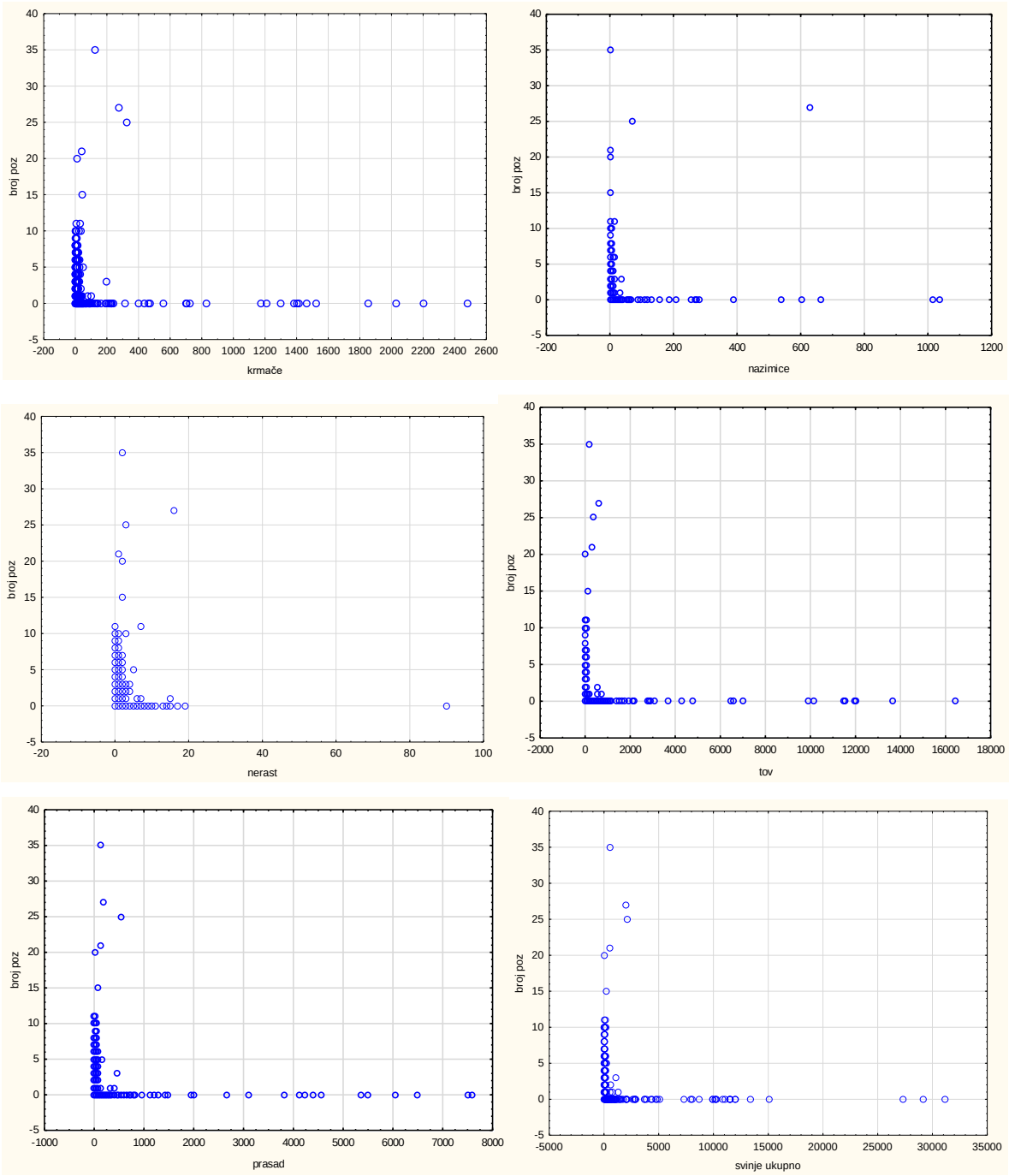
Slika 30. Usporedni prikaz gustoće svinja i prevalencije gospodarstava po županijama



Slika 31. Korelacija gustoće svinja i prevalencije gospodarstava po županijama

Broj svinja prema uzgojnim kategorijama po županijama prikazan je u Prilogu 6. Vidljivo je da osim po ukupnom broju životinja, tako i po broju uzgojnih kategorija, postoji razlika po županijama. No, uspoređujući broj svinja i pojedine uzgojne kategorije u odnosu na broj pozitivnih i negativnih gospodarstava, razvidno je da je najveći broj pozitivnih gospodarstava koja su prema veličini (ukupnom broju svinja) svrstane u male (do 10 svinja) i srednje velike (od 11 do 100 svinja).
Odnos broja pozitivnih svinja unutar uzgojnih kategorija prikazan je na Slici 32.

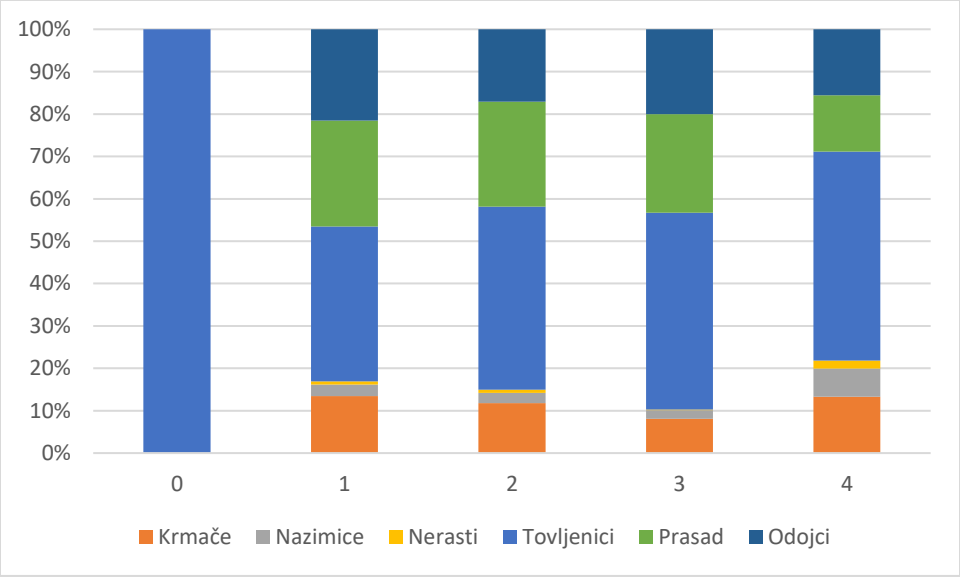
Broj životinja po pojedinoj uzgojnoj kategoriji vidljiv je u Prilogu 7, a struktura gospodarstava po županijama prikazana je na Slici 33. U Tablici 14. prikazan je ukupan broj svinja na gospodarstvima po pojedinim kategorijama u odnosu na biosigurnost, a na Slici 33. njihova podjela prema uzgojnoj strukturi analiziranih gospodarstava.



Slika 32. Ukupan broj svinja po pojedinoj uzgojnoj kategoriji u odnosu na broj pozitivnih svinja unutar uzgojnih kategorija: krmače (gore lijevo), nazimice (gore desno), nerasti (sredina lijevo), tovljenici (sredina desno), prasad (dolje lijevo) te svinje ukupno (dolje desno)

Tablica 14. Broj svinja na analiziranim gospodarstvima po kategorijama

Kategorija	Broj gosp.	Životinje					
		Prevalencija	N	Mean	Min.	Maks.	SD
0	551	3,44	551	1	1	1	0
1	16088	3,97	243194	15,12	1	1990	29,71
2	11890	4,24	262599	22,09	1	11530	144,97
3	2138	7,43	393940	184,3	1	31159	1488,5
4	20	15	783	39,15	2	113	33,45



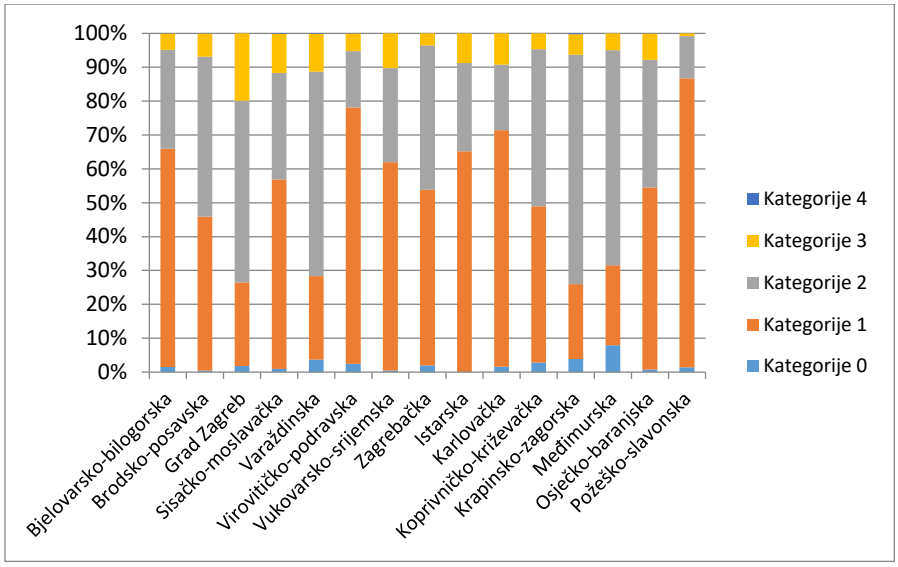
Slika 33. Uzgojna struktura gospodarstava po kategorijama

Između pojedinih kategorija postoji razlika u odnosu na broj pojedinih uzgojnih kategorija svinja. Značajne razlike su ustanovljene između svih kategorija u broju krmača, tovljenika i nerasta ($P < 0,05$). Od ostalih uzgojnih kategorija, jedino broj nazimica nije bio značajan između kategorija 1 i 2 te broj nerasta između kategorija 2, 3 i 4. Značajna razlika je ustanovljena prema kategorijama između županija ($P < 0,001$).

Broj gospodarstava prema kategoriji po županijama prikazan je u Tablici 15., a njihov udio unutar svake županije grafički je prikazan na Slici 34.

Tablica 15. Broj gospodarstava prema kategorizaciji po županijama

Županije	Kategorizirana gosp.	Broj gospodarstava prema kategorijama									
		0		1		2		3		4	
	N	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Bjelovarsko-bilogorska	3092	48	1,55	1992	64,42	901	29,15	150	4,85	1	0,03
Brodsko-posavska	2495	12	0,48	1133	45,41	1178	47,21	171	6,85	1	0,04
Grad Zagreb	273	5	1,83	67	24,54	147	53,85	54	19,8	0	0
Istarska	47	0	0	31	65,36	12	25,53	4	8,51	0	0
Karlovačka	828	13	1,57	579	69,93	160	19,32	76	9,18	0	0
Koprivničko-križevačka	3028	87	2,87	1395	46,07	1405	46,4	141	4,66	0	0
Krapinsko-zagorska	2692	105	3,9	595	22,1	1823	67,72	163	6,05	6	0,22
Međimurska	343	27	7,87	81	23,62	218	63,36	17	4,96	0	0
Osječko-baranjska	4479	33	0,74	2407	53,74	1690	37,73	345	7,7	4	0,09
Požeško-slavonska	1298	18	1,39	1108	85,36	162	12,48	10	0,77	0	0
Sisačko-moslavačka	2492	24	0,96	1393	55,9	784	31,46	287	11,5	4	0,16
Varaždinska	1647	61	3,7	406	24,65	993	60,29	183	11,1	3	0,18
Virovitičko-podravska	1860	46	2,45	1408	75,7	308	16,56	97	5,22	1	0,05
Vukovarsko-srijemska	3340	17	0,51	2052	61,44	929	27,81	342	10,2	0	0
Zagrebačka	2773	55	1,98	1441	51,97	1179	42,52	98	3,53	0	0



Slika 34. Udio broja gospodarstava po kategoriji unutar županija

Testiranjem razlike ustanovljeno je da je najveća razlika u broju gospodarstava u kategoriji 1 i 2. Podjednaku raspodjelu kategorija imaju Grad Zagreb, Varaždinska, Krapinsko-zagorska i Međimurska županija. Ove županije u odnosu na ostale imaju znatno manji broj gospodarstava u kategoriji 1 (od 22,10% do 24,65%), a znatno veći broj gospodarstava u kategoriji 2 (od 53,88% do 68,29%). Također, u Varaždinskoj županiji i Gradu Zagrebu te zatim u Vukovarsko-srijemskoj i Sisačko-moslavačkoj županiji, značajnije veći broj gospodarstava je u kategoriji 3.

Uspoređujući broj gospodarstava prema kategorijama u Varaždinskoj i Krapinsko-zagorskoj županiji s prevalencijom bolesti Aujeszkoga u tim županijama (Tablica 11.), razvidno je da unatoč podjednakoj raspodjeli kategorija, imaju statistički značajno različitu prevalenciju i to Krapinsko-zagorska županija najmanju (0,15%), a Varaždinska najveću (12,14%) ($P < 0,05$).

5.5. Procjena jačine povezanosti pojedinih rizičnih čimbenika s gospodarstvima pozitivnima na bolest Aujeszkoga

Rezultati kategorizacije, odnosno odgovori na pitanja iz upitnika (Prilog 3) analizirani su kao pojedinačne varijable podijeljene po skupinama te prikazani u Tablicama 16. do 29.

Svi dobiveni rezultati u ukupnom uzorku analizirani su u cilju pronalaženja glavnih čimbenika koji bi se mogli povezati s gospodarstvima pozitivnima na bolest Aujeszkoga i kako bi se procijenila jačina povezanosti tih čimbenika s pozitivnim gospodarstvima.

5.5.1. Označavanje i registracija svinja

Povezanost odgovora vezano za način označavanja i registracije svinja prikazani su u Tablicama 16. i 17.

Tablica 16. Povezanost označavanja i nepravilnosti u označavanju svinja s gospodarstvima pozitivnima na bolest Aujeszkoga

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
2.2. Svinje se označavaju tetoviranjem	2,77	1,47-5,23	0,0016
2.3. Svinje se označavaju ušnom markicom	1,35	0,99-1,83	0,0522
2.4. Svinje označava ovlaštena osoba	1,79	1,25-2,47	0,0011
2.5. Na gospodarstvu ima neoznačenih svinja, a nema krmače	1,51	1,30-1,75	< 0.0001
2.6. Na gospodarstvu ima označenih svinja, bez dokumentacije	0,6	0,35-1,05	0,0718

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Značajne razlike u odgovorima vezanim za označavanje svinja zabilježenim na gospodarstvima na kojima su utvrđene pozitivne svinje (pozitivna gospodarstva) i onih kod kojih su sve svinje bile negativne (negativna gospodarstva), bile su vezane za označavanje tetoviranjem, označavanje od strane ovlaštene osobe i prisustvo neoznačenih svinja na gospodarstvu (P < 0,01). Tako je ustanovljeno da je odnos odgovora DA/NE na pitanje označavaju li se svinje tetoviranjem, na pozitivnim gospodarstvima bio za 2,7 (CI 95% 1,47-5,23) puta učestaliji nego na negativnim gospodarstvima (P < 0,01), što znači da postoji vjerojatnost povezanosti prevalencije na pozitivnim gospodarstvima zbog takvog načina označavanja.

Također je ustanovljena vjerojatnost povezanosti varijable 2.5. „Na gospodarstvu ima neoznačenih svinja, a nema krmače“ s pozitivnim gospodarstvima (OR 1,5, CI 95%, 1,30-1,75) (P < 0,01).

Razlike po županijama za značajne varijable nisu nađene.

Razlike po kategorijama nađene su za varijablu 2.5. „Na gospodarstvu ima neoznačenih svinja, a nema krmače“ (P < 0,01) i to između kategorija 0-2, 0-3, 1-2, 1-3 te 2-3.

Tablica 17. Nepravilno vođenje evidencija i registra svinja i povezanost s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
3.1. Vođenje registra na gospodarstvu	1,53	1,28-1,82	< 0.0001
3.2. Upisivanje podataka o promjenama redovito i u roku od 3 dana	1,18	1,05-1,33	0,0043
3.3. Upisivanje podataka o ponovnom označavanju i uginućima	1,23	1,28-1,61	< 0.0001
3.4. Upisani podaci s putnog lista u registar unutar 3 dana	1,25	1,11-1,41	0,0002
3.5. Pravilno ispunjeni putni listovi	1,2	1,06-1,36	0,0031
3.6. Putni listovi dostavljeni ovlaštenoj veterinarskoj organizaciji	1,19	1,05-1,34	0,0063
3.7. Putni listovi dostavljeni u propisanom roku	1,19	1,05-1,34	0,0055
4.1. Izvršena obvezna godišnja prijava brojnog stanja svinja na gospodarstvu	1,86	1,66-2,09	< 0.0001

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Svi odgovori na pitanja koja su bila vezana za pravovaljano i pravovremeno vođenje registra svinja na gospodarstvima, razlikovala su se između pozitivnih i negativnih gospodarstava (P < 0,01). Svi navedeni rizični čimbenici bili su povezani s pozitivnim gospodarstvima. Iako je povezanost bila slaba i odnos vjerojatnosti (OR) se kretao od 1,18 (CI 95 % 1,05-1,33) do 1,86 (CI 95 % 1,66-2,09), pokazala se značajnom (P < 0,01).

Značajne razlike po županijama nađene su za sve varijable. Kad uspoređujemo Varaždinsku županiju kao županiju s najvećom i Krapinsko-zagorsku kao županiju s najmanjom prevalencijom, razlike su nađene u varijablama 3.2., 3.3. i 4.1.

Kad usporedimo županiju s najvećim OR u odnosu na Krapinsko-zagorsku županiju, a to je Osječko-baranjska županija, razlike su nađene u varijablama 3.1., 3.2., 3.4., 3.5., 3.6., 3.7. i 4.1.

Značajne razlike po kategorijama nađene su u varijablama: 3.1. (0-1, 2-2, 1-2, 1-3, 2-3), varijabli 3.2. (između svih kategorija osim 3-4), u varijablama 3.3. i 3.4 (između svih kategorija osim 2-4 i

3-4), u varijabli 3.5. (između svih kategorija osim 0-4, 2-4, 3-4), varijablama 3.6. i 3.7. (između svih kategorija osim 0-4, 2-4, 3-4) i u varijabli 4.1. (između svih kategorija osim 3-4).

5.5.2. Zdravlje životinja i biosigurnost

U Tablici 18. prikazana je jačina povezanosti različitih čimbenika koji se odnose na zdravlje i biosigurnost s gospodarstvima pozitivnima na bolest Aujeszkoga.

Tablica 18. Povezanosti čimbenika koji se odnose na zdravlje i biosigurnost s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
5.1. Prijava sumnje i znakove bolesti i uginuće veterinaru	0,85	0,50-1,53	0,641
5.2. Na gospodarstvu utvrđena sumnja/potvrđene bolesti u zadnja 3 mjeseca	0,81	0,33-1,97	0,6385
5.3 Provođenje mjera propisanih godišnjom naredbom	1,76	1,33-2,31	< 0.0001
5.4. Pobačaji u posljednjih 3 mjeseca	1,49	0,60-3,68	0,3906
5.4a Pobačaji prijavljeni	0,53	0,06-5,01	0,5807
5.4b Uzeti uzorci za utvrđivanje pobačaja	1,29	0,14-12,59	0,8256
5.5. Uginuća u posljednjih 3 mjeseca	1,73	1,33-2,25	< 0.0001
5.5a Uginuća prijavljena	1,91	0,82-4,50	0,1391
5.5b Provedeno isključivanje bolesti u laboratoriju	2,22	0,01-3,72	0,297
5.6 Komercijalni dokumenti o otpremi lešina dostupni	1,28	1,12-1,45	0,0003

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Iz tablice je razvidno da je značajna razlika između pozitivnih i negativnih gospodarstava bila samo u tri pitanja (varijable): 5.3. „Provođenje mjera propisanih godišnjom naredbom“, 5.5. „Uginuća u zadnjih 3 mjeseca“ i 5.6. „Komercijalni dokumenti o otpremi lešina dostupni“. U sve tri varijable, ustanovljena je povezanost s pozitivnim gospodarstvima i kretala se od 1,28 (CI 95 % 1,12-1,45) za varijablu 5.6. „Komercijalni dokumenti o otpremi lešina dostupni“ do 1,76 (CI 95 % 1,33-2,31)

za varijablu 5.3. „Provođenje mjera propisanih godišnjom naredbom“ (P < 0.01). Od sve tri značajne varijable, varijabla 5.5. „Uginuća u posljednjih 3 mjeseca“ je najuočljivija. Vjerojatnost da je taj čimbenik povezan s pozitivnim gospodarstvima je za 1,73 (CI 95 % 1,33-2,25) puta veći u odnosu na negativna gospodarstva (P < 0.01).

Varijable koje su bile povezane s pozitivnim gospodarstvima i značajne po županijama su 5.3. i 5.6. za Varaždinsku, Krapinsko-zagorsku županiju u varijabli 5.6, a Krapinsko-zagorsku županiju i Osječko-baranjsku županiju za varijablu 5.6.

Značajne razlike po kategorijama nađene su u varijablama 5.3. (između 0-1, 0-2, 1-2, 1-3), 5.5. (1-3, 2-3) i 5.6. (0-1, 0-2, 1-2, 1-3, 2-3).

U Tablicama od 19. do 23. prikazani su rezultati procjene povezanosti odgovora o biosigurnosti koji se odnose na sva gospodarstva (osim za gospodarstva u kategoriji 0) s pozitivnim gospodarstvima.

Tablica 19. Zaštita gospodarstva od glodavaca

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.1. Provodi se zaštita od ulaska glodavaca, ptica u objekte	1,09	0,96-1,25	0,1831
6.2. Provođenje deratizacije	2,51	1,41-4,44	0,0017
6.3. Evidencija o provedbi deratizacije	1,25	1,11-1,41	0,0002
6.4. Odlagalište smeća u blizini objekata	1,06	0,71-1,58	0,7666

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Značajno različiti rezultati dobiveni su na pitanje 6.1. o provođenju zaštite od štetnika i 6.3. o evidenciji o provođenju deratizacije (P < 0.01).

Za obje varijable nađena je razlika među županijama i to za Varaždinsku i Krapinsko-zagorsku te Krapinsko-zagorsku i Osječko-baranjsku.

Značajne razlike po kategorijama nađene su u varijablama: 6.2. (1-2) i 6.3. (između svih kategorija osim 3-4).

Tablica 20. Povezanost dopreme svinja na gospodarstvo i načina prijevoza svinja s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.5. Svinje dopremane na gospodarstvo u zadnja 3 mjeseca	0,19	0,12-0,28	P < 0.0001
6.12. Prijevoz svinja vlastitim vozilom	1,14	0,94-1,36	0,1771
6.13. Prjevoz svinja tuđim vozilom	0,88	0,70-1,13	0,3254

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Dopremanje svima na gospodarstvo u zadnja tri mjeseca (varijabla 6.5.) ukazuje da postoji razlika između pozitivnih i negativnih gospodarstava (P < 0,01), dok su varijable 6.12. i 6.13. vezano za prijevoz svinja osobnim ili tuđim vozilom bile podjednake u pozitivnih i negativnih gospodarstava (P > 0,05). No, kako je vidljivo iz Tablice 20., varijabla 6.5. nije bila povezana s pozitivnim gospodarstvima i ukazuje da je vjerojatnost povezanosti te varijable s infekcijom u pozitivnih gospodarstava čak za 0,19 (CI 95 % 0,12-0,28) puta manja u odnosu na negativna gospodarstva.
Za varijablu 6.5. nađena je razlika među županijama samo između Istarske i drugih županija te Krapinsko-zagorske i drugih županija. Značajne razlike za predmetnu varijablu nađene su između kategorija 1 i 2 te 1 i 3.

Tablica 21. Povezanost načina pripusta svinja s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.6. Prirodni pripust	1,1	0,98-1,24	0,095
6.7. Na gospodarstvu prisutan nerast u vrijeme kategorizacije	1,85	1,60-2,14	< 0.0001
6.8. Umjetno osjemenjivanje (UO)	1,14	1,01-1,28	0,0218
6.9. UO provodi ovlaštena osoba	1,07	0,94-1,20	0,3139
6.10. UO provodi posjednik	2,32	2,04-2,63	< 0.0001
6.11. Evidencija o pripustu	1,39	1,24-1,56	< 0.0001

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Rezultati vezani za prirodni pripust (varijabla 6.6.) i umjetno osjemenjivanje (varijable 6.8. i 6.9.) nisu bili različiti na pozitivnim i negativnim gospodarstvima, dok su ostali bili značajno različiti i ukazuju na vjerojatnost povezanosti s pozitivnim gospodarstvima. Ta povezanost je najveća u

provođenju umjetnog osjemenjivanja od strane posjednika (varijabla 6.10.). 2,32 (CI 95% 2,04-2,63) puta je vjerojatnost pojave infekcije na tim gospodarstvima veća uslijed tog čimbenika u odnosu na negativna gospodarstva. Prisutnost nerasta (varijabla 6.7.) također povećava vjerojatnost infekcije bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima i to za 1,85 (CI 95% 1,60-2,14) puta u odnosu na negativna gospodarstva (P < 0.01).

Za značajne varijable nađena je razlika među županijama. Za varijablu 6.7. najviša je razlika Brodsko-posavske županije s drugim županijama, za varijablu 6.10 razlika je najviša za Bjelovarsko-bilogorsku i Koprivničku županiju u odnosu na druge županije te Krapinsko-zagorsku u odnosu na Varaždinsku te Krapinsko-zagorsku u odnosu na Osječko-baranjsku. Vraijabla 6.11 pokazuje najvišu razliku ako se gleda odnos Varaždinske i drugih županija te Krapinsko-zagorske županije sa ostalim županijama osim Grada Zagreba.

Značajne razlike nađene su između kategorija i to za varijablu 6.7. između svih kategorija osim između kategorija 2 i 3, za varijablu 6.10. između kategorija 1 i 2, 1 i 3 i 2 i 3 te za varijablu 6.11. između kategorije 1 sa svim ostalim kategorijama, između 2 i 3 te 2 i 4, dok između kategorija 3 i 4 nema razlike.

Tablica 22. Povezanost načina držanja svinja s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.15. Držanje u zatvorenom bez ispusta	0,87	0,51-1,52	0,0739
6.16. Vanjski ispusti ograđeni	0,88	0,50-1,54	0,6526
6.17. Držanje na otvorenom	2,13	1,29-3,51	0,0031
6. 18. Odobrenje za držanje na otvorenom od veterinarske inspekcije	1,48	0,49-4,48	0,4908
6.19. Ograda je održavana	0,93	0,20-4,36	0,9243
6.22. Sve svinje su označene	1,96	0,69-5,61	0,2109

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Značajne razlike u držanju svinja ustanovljene su jedino kod držanja svinja na otvorenom (varijabla 6.17.) i te razlike značajno ukazuju na povezanost otvorenog držanja svinja s pojavom bolesti Aujeszkoga. Vjerojatnost infekcije virusom bolesti Aujeszkoga na pozitivnim gospodarstvima je bila za 2,13 (CI 95 % 1 ,29-3,51) puta veća zbog izloženosti tom čimbeniku u odnosu na negativna

gospodarstva (P < 0,05). Zamjetno je također da vanjski ispusti (varijabla 6.16.) nisu bili ograđeni (OR 0,88, CI 95% 0,50-1,54) u većem broju pozitivnih gospodarstava, kao i da je držanje u zatvorenom bez ispusta (varijabla 6.15.) (OR 0,87, CI 95% 0,74-1,01) na većem broju negativnih gospodarstava, ali ti čimbenici nisu pokazali značajnu razliku (P > 0,05).

Nije nađena razlika za varijablu 6.17. između županija dok je u odnosu na razlike između kategorija utvrđena razlika između kategorija 1 i 4, 2 i 4 i 3 i 4.

Tablica 23. Propisane minimalne mjere biosigurnosti na svim gospodarstvima (osim onih koji drže jednu tovnu svinju za vlastite potrebe – kategorija 0)

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.23. Gospodarstvo ograđeno i ulaz kontroliran	2,01	1,62-2,63	<0,0001
6.24. Uvođenje svinja na gosp. samo iz registriranih uzgoja i s dokumentacijom	1,29	1,08-1,53	0,0054
6.25. Novouvedene svinje drže se odvojeno	1,18	0,99-1,39	0,0549
6.26. Redovito provođenje čišćenja i dezinfekcija objekata	1,16	0,92-1,48	0,2096
6.27. Redovito provođenje čišćenje i dezinfekcija vozila	1,43	0,96-1,36	0,1352
6.28. Kontroliran ulazak u objekt dozvoljen samo određenim osobama	2,26	1,50-3,39	0,0001
6.29. Dezinfekcija obuće pri ulasku u objekt	1,37	1,22-1,54	<0,0001

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

U Tablici 23. prikazana je analiza varijabli koje se odnose na pitanja biosigurnosti na svim gospodarstvima bez obzira na veličinu, osim na gospodarstvima kategorije 0 koja drže samo jednu svinja za vlastite potrebe. Svi odgovori za čimbenike navedene u Tablici 23. mogu se povezati s pozitivnim gospodarstvima, ali je značajna razlika u vjerojatnosti povezanosti s pozitivnim gospodarstvima ustanovljena samo u varijablama 6.23., 6.24., 6.28. i 6.29. (P < 0,01).

Za značajne varijable nađena je razlika među županijama: varijabla 6.23. najviše Krapinsko-zagorska županija s drugim županijama, varijabla 6.24. najviše Karlovačka s ostalim županijama, Bjelovarsko-bilogorska županija sa županijama središnje Hrvatske, Krapinsko-zagorska sa županijama središnje Hrvatske, varijabla 6.28. Međimurska i Požeško-slavonska županija u odnosu na druge županije te varijabla 6.29. najviše Koprivničko-križevačka u odnosu na druge županije i Vukovarsko-srijemska u odnosu na druge županije.

Razlike između kategorija nađene su za varijable 6.23. i 6.24. između kategorija 1 i 2, 1 i 3 te 2 i 3, za varijablu 6.28. između kategorija 1 i 2 i 1 i 3, dok je za varijablu 6.29. utvrđena razlika između kategorija 1 i 2, 1 i 3, 2 i 3 te 2 i 4.

U Tablici 24. prikazana je povezanost s dodatnim čimbenicima biosigurnosti primjenjivim za gospodarstva s više od 10 svinja.

Tablica 24. Čimbenici biosigurnosti primjenjivi za gospodarstva s više od 10 svinja

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.30. Radnicima i posjetiteljima osigurana zaštitna odjeća	0,46	0,38-1,74	<0,0001
6.31. Zabranjen izlaz s gospodarstva u istoj odjeći i obući	0,52	0,40-0,68	<0,0001
6.32. Postoji dezbarijera za vozila	0,96	0,69-1,27	0,6717
6.33. Postoji dezbarijera za osoblje	1,34	0,16-1,56	0,0001

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Odgovori na pitanja vezana za posjedovanje zaštitne odjeće na gospodarstvu (varijable 6.30. i 6.31.) ukazuju na postojanje razlika u tim postupcima na pozitivnim i negativnim gospodarstvima. U varijabli 6.30. nađene su razlike između županija i to najviše Brodsko-posavske s ostalim županijama, zatim Bjelovarsko-bilogorske s ostalim županijama. U varijabli 6.33. razlike su iste kao i u varijabli 6.30., dok je u varijabli 6.33 nađena razlika Brodsko-posavske i Krapinsko-zagorske županije s ostalim županijama, a Bjelovarsko-bilogorske i Vukovarsko-srijemske u odnosu na većinu županija.

Za sve tri varijable (6.30., 6.31. i 6.33.) nađene su razlike između kategorija 1 i 2, 1 i 3 te 2 i 3.

U Tablici 25. prikazana je povezanost s čimbenicima biosigurnosti primjenjivim za gospodarstva s više od 100 svinja.

Tablica 25. Čimbenici biosigurnosti primjenjivi za gospodarstva s više od 100 svinja

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
6.34. Određena osoba za održavanje dezbarijere	1,16	0,47-2,86	0,7412
6.35. Evidencija o održavanju barijere	0,97	0,51-1,87	0,9351
6.36. Dezinfekcija ruku i obuće pri ulazu na gospodarstvo	0,67	0,31-1,47	0,3264
6.37. Osigurani sanitarni prostor i garderoba	0,67	0,31-1,41	0,2899
6.38.Obavezno presvlačenje	0,52	0,17-1,58	0,2483
6.39. Osigurano pranje odjeće i jednokratna odjeća i obuća	1,44	0,43-4,83	0,5576
6.40. Vozila na ulazu na gospodarstvo obavezno prolaze kroz dezbarijeru	2,05	0,89-4,73	0,0938
6.41. Posjetitelji na ulazu na gospodarstvo obavezno prolaze kroz dezbarijeru	1,27	0,52-2,12	0,5985
6.42. Vodi se evidencija o vozilima	1,07	0,54-2,13	0,8393
6.43. Zabranjeno držanje drugih životinja u objektu gdje su svinje	0,75	0,25-2,21	0,5974
6.44. Kontrolirano unošenje iznošenje pribora i oruđa za rad	2,25	0,30-17,06	0,4319
6.45. Organizirana prehrana zaposlenika u krugu gospodarstva	1,08	0,49-2,32	0,8511
6.46. Zabrana unošenja hrane na gospodarstvo	0,93	0,27-3,17	0,9045
6.47. Zabranjeno zaposlenicima držanje svinja u vlastitim objektima	1,13	0,39-3,30	0,8249
6.48. Zabranjeno zaposlenicima raditi u drugim objektima sa svinjama	0,73	0,27-1,95	0,5261
6.49. Zabranjeno zaposlenicima sudjelovati u lovu ili rukovanju s divljim svinjama	0,82	0,31-2,19	0,6936
6.50. Obavezna prijava zaposlenika o rizičnom kontaktu s bolesnom ili na bolest sumnjivom svinjom	0,46	0,15-1,39	0,1673

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Svi biosigurnosni čimbenici navedeni u Tablici 25. podjednako su zastupljeni na pozitivnim i negativnim gospodarstvima koja drže 100 i više svinja. To su uglavnom veća i velika gospodarstva koja primjenjuju sve navedene mjere za koje se smatra da povoljno utječu na sprječavanje unosa i pojavu infekcije. Iako postoje razlike u OR one nisu značajne. Čak i one varijable biosigurnosti kod kojih je izračunat OR manji od 1 znače da su one jače primijenjene na negativnim gospodarstvima. U ovim odgovorima je nađena i visoka značajna korelacija odgovora (Spearsmanov koeficijent korelacije 0,99 P < 0,05).

5.5.3. Ostali uvjeti držanja svinja

U Tablici 26. prikazana su pitanja iz skupine ostalih uvjeta i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima.

Tablica 26. Ostali uvjeti držanja vezano na dobrobit i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
7,1 Osiguran odvojen prostor za bolesne svinje	1,14	0,86-1,51	0,358
7.2. Evidencija o liječenju životinja	1,08	0,95-1,23	0,2313
7.3. Primjereno držanje svinja i redovito čišćenje	1,04	0,53-2,03	0,9007
7.4. Stalni pristup vodi i primjerena vrsta i količina hrane	0,89	0,46-1,74	0,7355

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Za sve varijable (čimbenike) navedene u Tablici 26. nije nađena značajna povezanost s pozitivnim gospodarstvima (P > 0,05).

U tablici 27. prikazani su čimbenici koji se povezuju s proizvodnjom i čuvanjem hrane, a u tablici 28. s proizvodnjom i držanjem stelje i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima.

Tablica 27. Ostali uvjeti u odnosu na hranidbu i njihova povezanost s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
7.5. Vlastita proizvodnja hrane	0,88	0,52-1,51	0,6499
7.6. Hrana od drugih proizvođača	1,47	1,31-1,65	<0,0001
7.7. U hrani se daje otpad prehrambene industrije	0,3	0,21-0,43	<0,0001
7.7a. Napoj koji sadrži ostatke životinjskog podrijetla	0,93	0,44-1,99	0,8545
7.8. Odgovarajuće skladištenje hrane i zaštita od štetnika	1,06	0,94-1,44	0,1666

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Varijable 7.6. „Hrana od drugih proizvođača“ i 7.7. „U hrani se daje otpad prehrambene industrije“ pokazuju značajnu razliku između pozitivnih i negativnih gospodarstava (P < 0,01). Iako su obje varijable značajne, imaju suprotan učinak. Čimbenik koji je povezan s pozitivnim gospodarstvima je dopremanje hrane od drugih proizvođača (varijabla 7.6.). Povezanost je značajna i vjerojatnost infekcije na pozitivnim gospodarstvima je 1,27 (CI 95% 1,31-1,65) puta veća u odnosu na negativna gospodarstva (P < 0,01). Odgovori za varijablu 7.7. upućuju na veću povezanost s negativnim gospodarstvima.

Razlike između županija nađene su za varijablu 7.6. i to Varaždinske, Zagrebačke, Osječko-baranjske, Požeško-slavonske i Virovitičko-podravske s ostalim županijama te Karlovačke županije sa svim županijama, osim sa Sisačko-moslavačkom i Zagrebačkom županijom. U varijabli 7.7. nađena je razlika za Zagrebačku županiju u odnosu na sve ostale županije te Varaždinsku u odnosu na većinu županija.

Kad se gleda razlika između pojedinih kategorija gospodarstava u varijablama 7.6. i 7.7. nađene su razlike između kategorije 1 i 3 te 2 i 3.

Tablica 28. Povezanost ostalih uvjeta u odnosu na proizvodnju, nabavu i skladištenje stelje s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
7.9. Proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu	1,88	1,31-2,69	0,0006
7.10 Stelja od drugih proizvođača	0,58	0,42-0,81	0,0014
7.11. Odgovarajuće skladištenje stelje i zaštita od štetnika	0,42	0,36-0,50	<0,0001
7.12. Evidencija o nabavljenoj stelji	1,06	0,90-1,24	0,4895

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu (varijabla 7.9.) povezana je s pozitivnim gospodarstvima. Vjerojatnost da su gospodarstva pozitivna zbog tog čimbenika je za 1,88 (CI 95% 1,31-2,69) puta veća od vjerojatnosti infekcije na negativnim gospodarstvima (P < 0,01).

Varijable 7.9. i 7.10. razlikuju se po županijama i to najviše u Vukovarsko-srijemskoj u odnosu na ostale županije. Varijabla 7.11. najviše se razlikuje u Varaždinskoj županiji u odnosu na ostale županije, zatim Virovitičko-podravske s drugim županijama te Krapinsko-zagorske s drugim županijama.

Kad se gledaju razlike unutar kategorija, za varijablu 7.10. ne nalazi se razlika, za varijablu 7.9. razlika je između kategorije 1 i 2, dok je za varijablu 7.11. razlika nađena između kategorija i 1, 0 i 3, 1 i 2, 1 i 3 te 2 i 3.

Tablica 29. pokazuje povezanost ostalih uvjeta na gospodarstvima vezanih za način zbrinjavanja stajskog gnoja u odnosu na pozitivna gospodarstva.

Tablica 29. Povezanost zbrinjavanja stajskog gnoja s pozitivnim gospodarstvima

Rizični čimbenik	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednost[3]
7.13. Zbrinjavanje gnoja na odgovarajući način	1,23	1,08-1,41	0,0018
7.14. Otpremanje gnoja na vlastite poljoprivredne površine	1,38	0,77-2,46	0,2793
7.15. Evidencija o otpremanju gnoja na tuđe poljoprivredne površine	0,54	0,31-0,94	0,0305

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Odgovori na pitanje o zbrinjavanju gnoja na odgovarajući način (varijabla 7.13.) ukazuju na povezanost s pozitivnim gospodarstvima. Iako ta povezanost nije velika (OR=1,23, CI 95% 1,08-1,41) pokazala se značajnom (P < 0,05). Evidencija o otpremanju gnoja na tuđe poljoprivredne površine (varijabla 7.15.) vezana je za negativna gospodarstva, odnosno pokazala se kao protektivni čimbenik.

Po županijama razlika je nađena za varijable 7.13., ali ne i za 7.14.

Kad se gledaju razlike po kategorijama, za varijablu 7.14. nije nađena razlika, dok za varijable 7.13. i 7.15. razlika postoji (Varijabla 7.13. razlike između 0-1, 0-3, 1-2, 1-3, 1-4 i 2-3; Varijabla 7.15. razlike između 1-2 i 1-3).

U Tablici 30. objedinjeni su glavni značajni rizični čimbenici (varijable) za koje je nađena vjerojatnost povezanosti infekcije virusom bolesti Aujeszkoga s pozitivnim gospodarstvima prema ustanovljenim glavnim razlikama među županijama i kategorijama.

Tablica 30. Objedinjeni glavni značajni rizični čimbenici i ustanovljene razlike po županijama i kategorijama

Rizični čimbenik	Razlike po županijama	Razlike po kategorijama
2.1. Ukupan broj neoznačenih svinja na gospodarstvu	DA	DA
2.2. Označavanje tetoviranjem	NE	DA
2.5. Na gosp. ima neoznačenih svinja, a nema krmače	NE	DA
5.5. Uginuća u posljednjih 3 mjeseca	DA	DA
6.7. Prisutan nerast na gosp. u vrijeme kategorizacije	DA	DA
6.10. UO provodi posjednik	DA	DA
6.17. Držanje na otvorenom	NE	DA
7.6. Hrana od drugih proizvođača	DA	DA
7.9. Proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu	DA	DA
7.11. Odgovarajuće skladištenje stelje i zaštita od štetnika	DA	DA

Temeljem izračunate prevalencije na razini gospodarstva procijenjena je opća izloženost mogućim rizičnim čimbenicima uzimajući u obzir županiju, odnosno kategoriju s najmanjom prevalencijom na razini gospodarstva (Tablice 31. i 32.).

OR između županija izračunat je temeljem odnosa broja pozitivnih i negativnih gospodarstava u pojedinoj županiji u odnosu na broj pozitivnih i negativnih gospodarstava u županiji s najmanjom prevalencijom manjom od 1%, i to kao vjerojatnost izloženosti svim potencijalnim čimbenicima. Prevalencija manja od 1% na područjima koja nisu slobodna od bolesti, prihvatljiva je tijekom provedbe iskorjenjivanja bolesti. Krapinsko-zagorska županija je županija s prevalencijom od 0,15%, pa se može pretpostaviti da je u toj županiji i najmanje utjecaja rizičnih čimbenika te su prema njoj procijenjena ostala područja (županije).

Tablica 31. Vjerojatnost izloženosti rizičnim čimbenicima u pojedinim županijama u odnosu na županiju s najnižom prevalencijom

Županija	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednosti[3]
Krapinsko-zagorska	referentna		
Bjelovarsko-bilogorska	41,05	15,22-110,73	< 0.0001
Brodsko-posavska	3,44	2,54-4,57	< 0.0001
Grad Zagreb	0,52	0,16-1,67	0,2698
Istarska	29,87	5,33-167,26	0.0001
Karlovačka	1,63	0,29-8,89	0,5744
Koprivničko-križevačka	30,63	11,31-82,94	< 0.0001
Međimurska	39,41	13,32-116,55	< 0.0001
Osječko-baranjska	44,13	16,43-118,55	< 0.0001
Požeško-slavonska	10,52	3,59-30,83	0.0001
Sisačko-moslavačka	3,8	2,81-5,14	< 0.0001
Varaždinska	6,52	4,82-5,51	< 0.0001
Virovitičko-podravska	16,66	5,98-46,41	< 0.0001
Vukovarsko-srijemska	30,28	11,19-81,88	< 0.0001
Zagrebačka	17,91	6,53-49,09	< 0.0001

[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

Rezultati analize ukazuju na to da županije s manjom prevalencijom mogu imati odnos pozitivnih i negativnih gospodarstava puno veći, dok velika prevalencija nužno ne znači i da je odnos pozitivnih i negativnih (odnosno bolesnih i zdravih) velik. Zbog navedenih razlika rizični čimbenici testirani su osim na razini županija i na razini kategorija.

Tablica 32. Vjerojatnost izloženosti rizičnim čimbenicima ovisno o biosigurnosnim kategorijama u odnosu na najnižu prihvatljivu prevalenciju

Kategorija	OR[1]	CI 95 %[2]	P-vrijednosti[3]
0	Referentna		
1	1,44	0,90-2,28	0,1283
2	1,24	0,78-1,98	0,3675
3	1,26	0,76-2,08	0,3604
4	4,94	1,33-18,31	0,0168

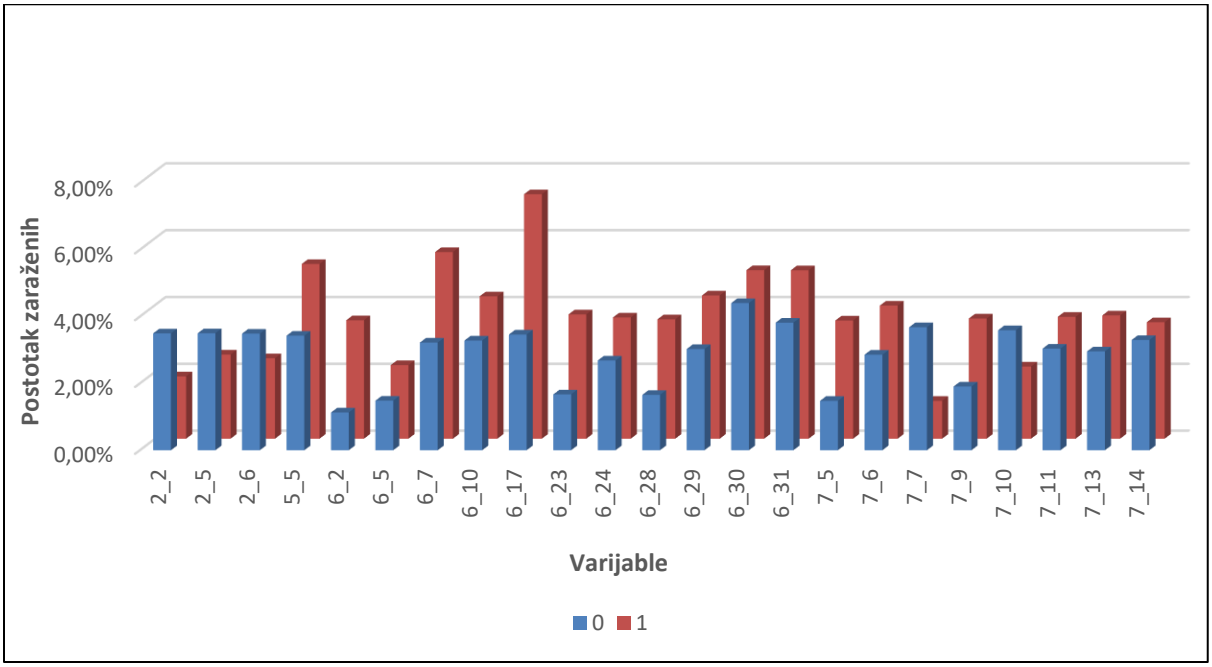
[1] vjerojatnost povezanosti (odds ratio-OD); [2] interval pouzdanosti (confidence interval-CI); [3] značajno P<0,05

U kategoriji 4 koja je imala najveću prevalenciju značajno je i veći odnos pozitivnih i negativnih gospodarstava u odnosu na kategoriju 0 gdje je bila najmanja prevalencija te je stoga i uzeta kao referenta kategorija. Zamjetno je da je udio gospodarstava u kategoriji 4 u svim županijama bio najmanji.

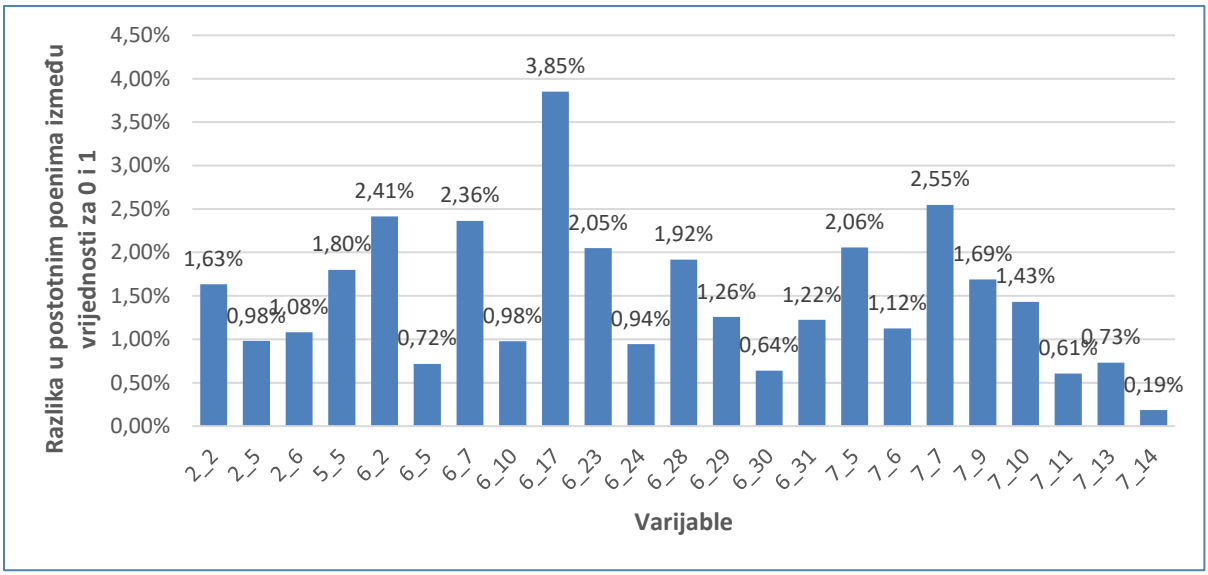
5.6. Rezultati analize rizičnih čimbenika dobiveni korištenjem modela

U cilju procjene očekivanja djelovanja čimbenika na analiziranim farmama, modelom su se procijenili svi čimbenici, ali su u radu prezentirani čimbenici za koje se ustanovila znatna povezanost s pozitivnim gospodarstvima (OR veći od 1,5, P < 0,05), a koji su važni s gledišta biosigurnosti i koji su sumirani u Tablici 30. Na temelju jačine djelovanja čimbenika i broja pozitivnih gospodarstava u pojedinom vremenu testiranja, modelom su prikazane vjerojatnosti pojedinih statusa te očekivano rasipanje rezultata u budućem vremenu. U modelu su radi jednostavnijeg izražavanja i opisa, sva pozitivna gospodarstva označena kao zaražena (zaražene farme), kao i u opisu prosječnog broja zaraženih životinja po gospodarstvu.

Na Slici 35. prikazan je postotak pozitivnih (zaraženih) gospodarstava (prevalencija) po svim ispitivanim varijablama (čimbenicima) tj. prisutnosti (oznaka 1) ili neprisutnosti (oznaka 0) čimbenika na gospodarstvu prilikom prvog posjeta, a na Slici 36. razlika toga postotka između gospodarstava na kojima je taj čimbenik djelovao i gospodarstava na kojima nije bilo djelovanja tog čimbenika.



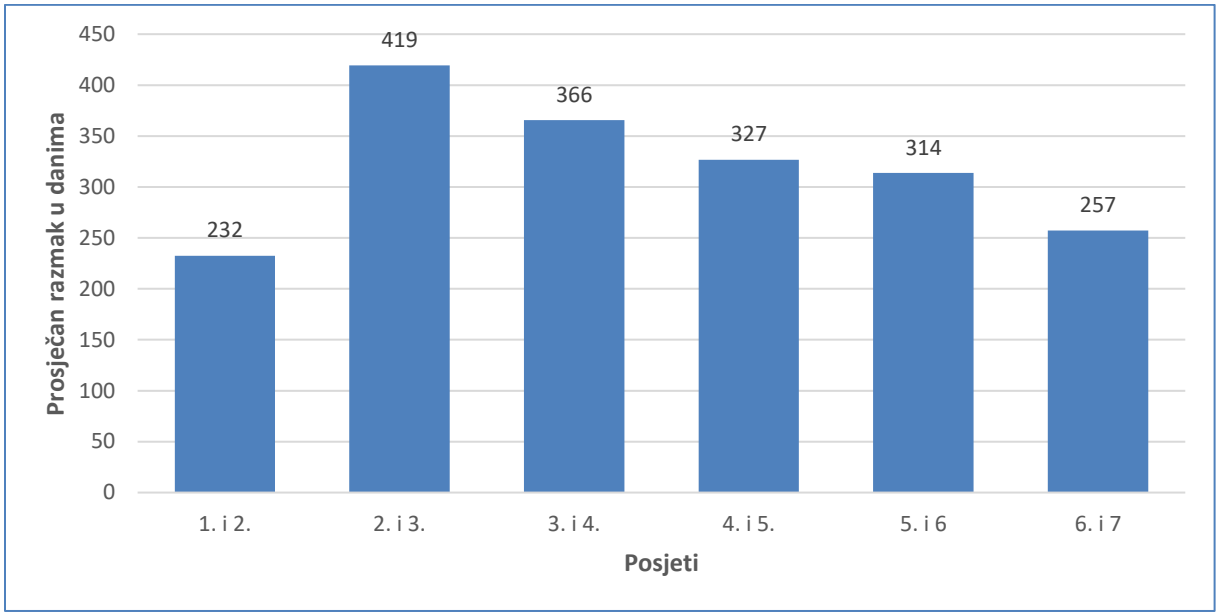
Slika 35. Postotak zaraženih farmi po varijablama prilikom prvog posjeta (farme na kojima je čimbenik bio prisutan (1) i farme na kojima čimbenik nije bio prisutan (0))



Slika 36. Razlika postotka za vrijednost varijable 0 (čimbenik nije prisutan) i 1 (čimbenik prisutan) prilikom 1. posjeta

Kao što je razvidno na Slikama 35. i 36., najveća razlika u djelovanju čimbenika na prevalenciju nađena je kod varijable 6.17. „Držanje na otvorenom“ (3,85 %).

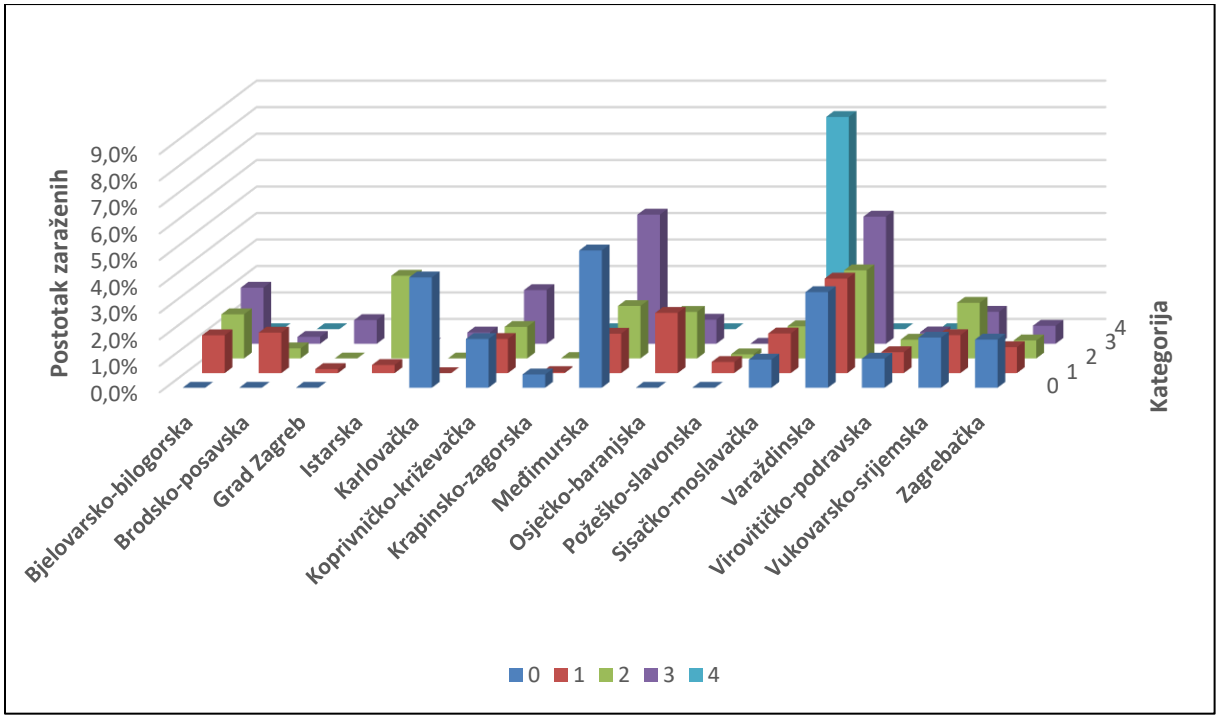
U istraživanom razdoblju gospodarstva su testirana više puta, s različitim vremenskim razmacima između pojedinih testiranja (u modelu označeno kao posjeti). Prosječno vremensko razdoblje između posjeta prikazano je na Slici 37.



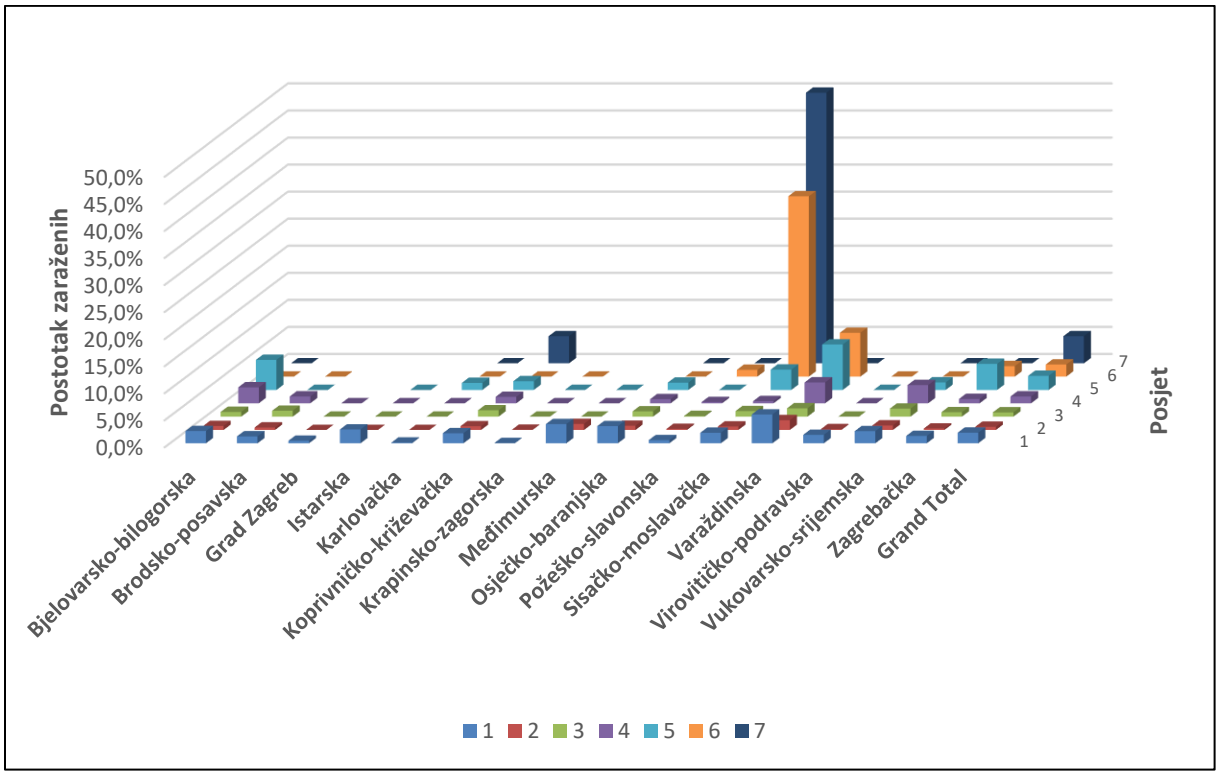
Slika 37. Razmak između posjeta u danima

U modelu je osim posjeta uzeta u obzir i kategorija gospodarstva, pa su ulazne varijable u modelu, osim posjeta, bile i kategorije. Na Slikama 37. i 38. prikazana je prevalencija u svakoj županiji po kategorijama i po posjetu.

Razvidan je veliki broj pozitivnih gospodarstava u pojedinim županijama u kategorijama 0 i 4. Značajno se ističe Varaždinska županija sa značajno većim brojem pozitivnih gospodarstava u svim kategorijama, a poglavito u kategoriji 4 (Slika 38.) što ukazuje na važnost primjene mjera upravo na tim područjima i na tim gospodarstvima. Usporedbom djelovanja čimbenika i pozitivnih gospodarstava koja su bila testirana više puta (u modelu imala više posjeta), značajno veći broj pozitivnih gospodarstava u nekim županijama povećavao se s brojem posjeta, a što je posebno razvidno u Varaždinskoj, Sisačko-moslavačkoj, Bjelovarsko-bilogorskoj i Koprivničko-križevačkoj županiji (Slika 39.).

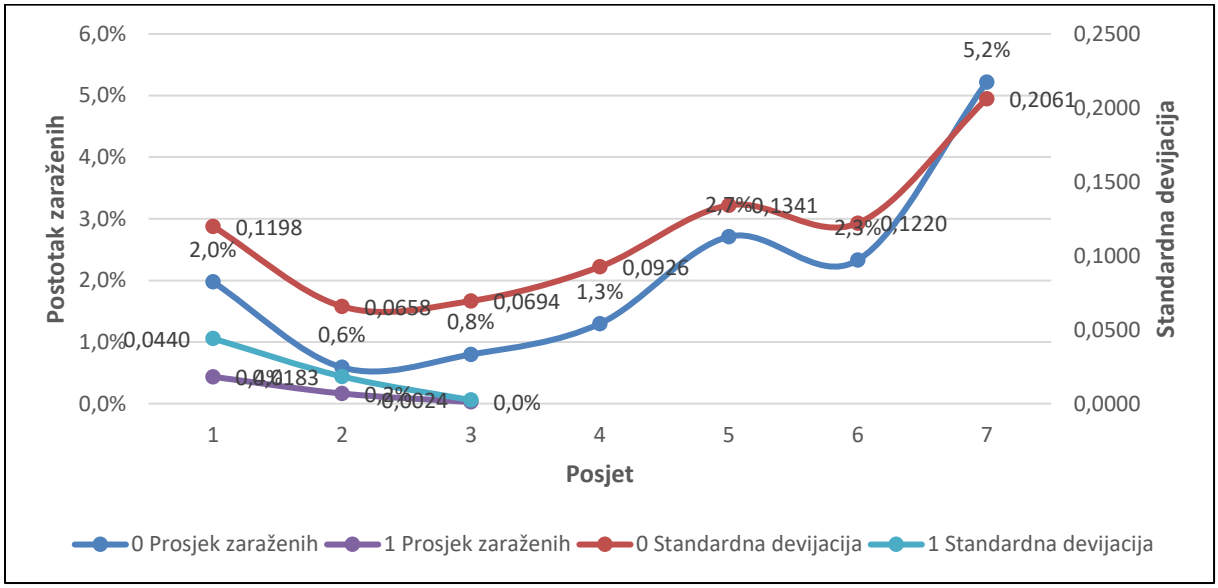


Slika 38. Postotak zaraženih po županijama i kategoriji

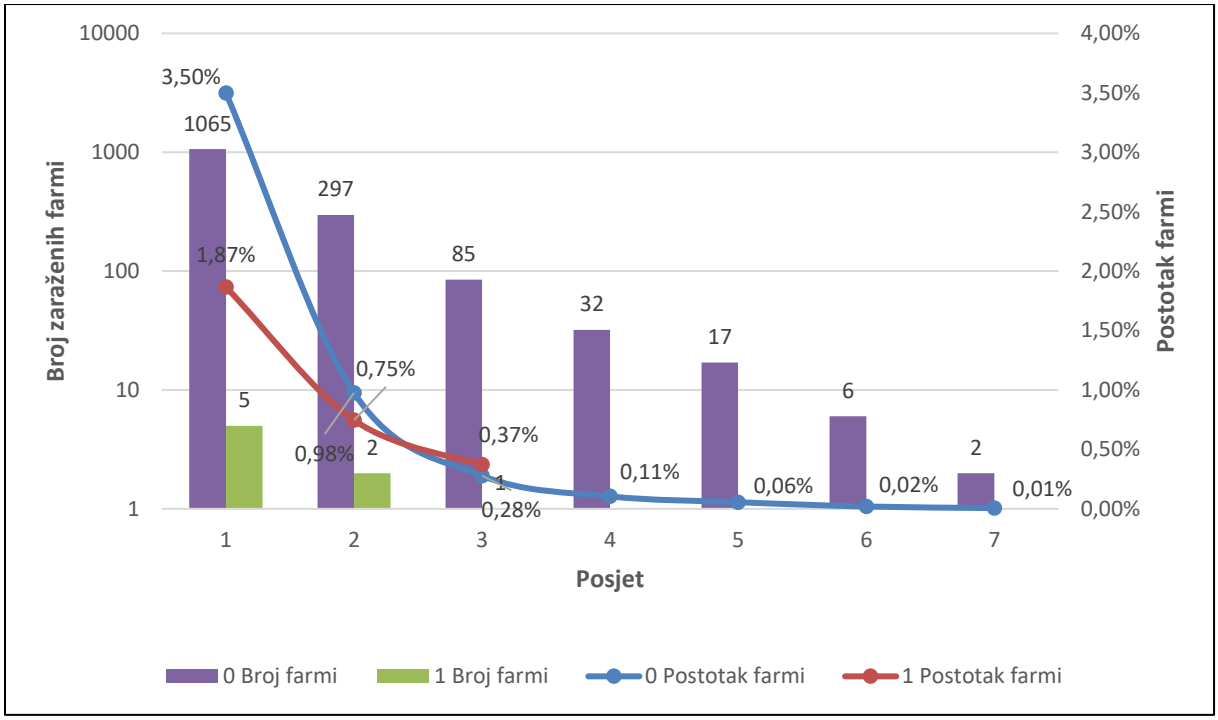


Slika 39. Postotak zaraženih po županijama i posjetu

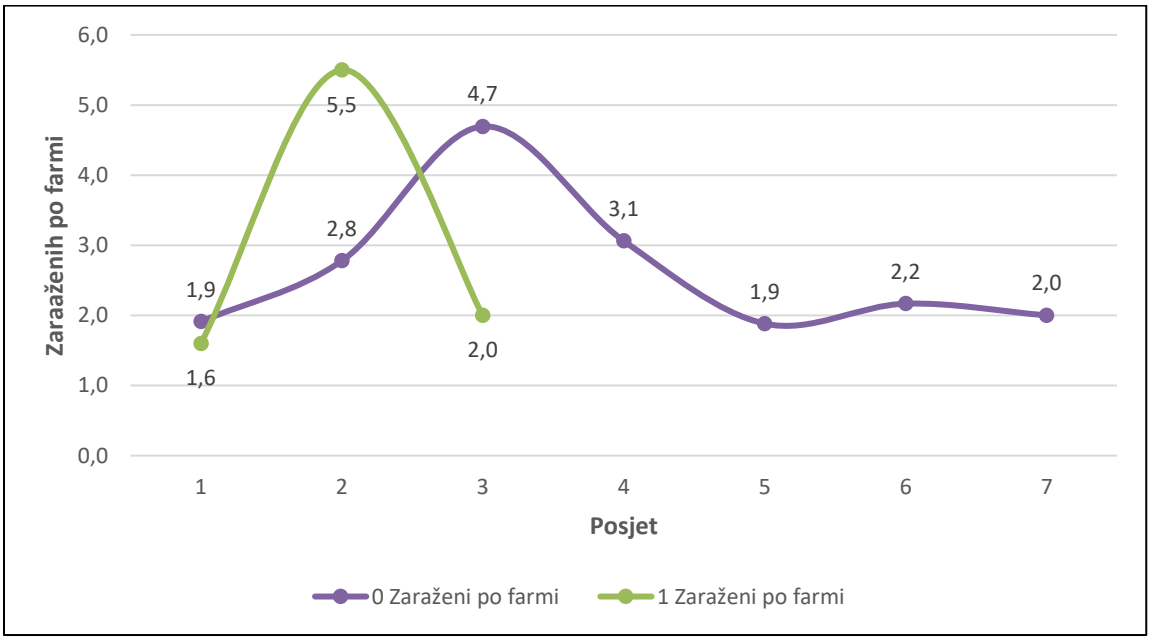
Na Slikama 40. i 41. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima na kojima je djelovao čimbenik 2.2. „Označavanje tetoviranjem“ i na gospodarstvima na kojima taj čimbenik nije djelovao. Modelom se pokazalo da je vrlo mali broj pozitivnih gospodarstava koje označavaju svinje tetoviranjem i da unatoč kontinuiranom padu broja pozitivnih gospodarstava koja označavaju svinje tetoviranjem, prosječan broj zaraženih po gospodarstvu fluktuira (naglo raste prilikom 2. posjeta da bi zatim taj broj od 4. posjeta pao na početnu vrijednost) (Slike 41. i 42.).



Slika 40. Varijabla 2.2 - Prosjek pozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta na farmama koje tetoviraju (1) i koje ne tetoviraju svinje (0)



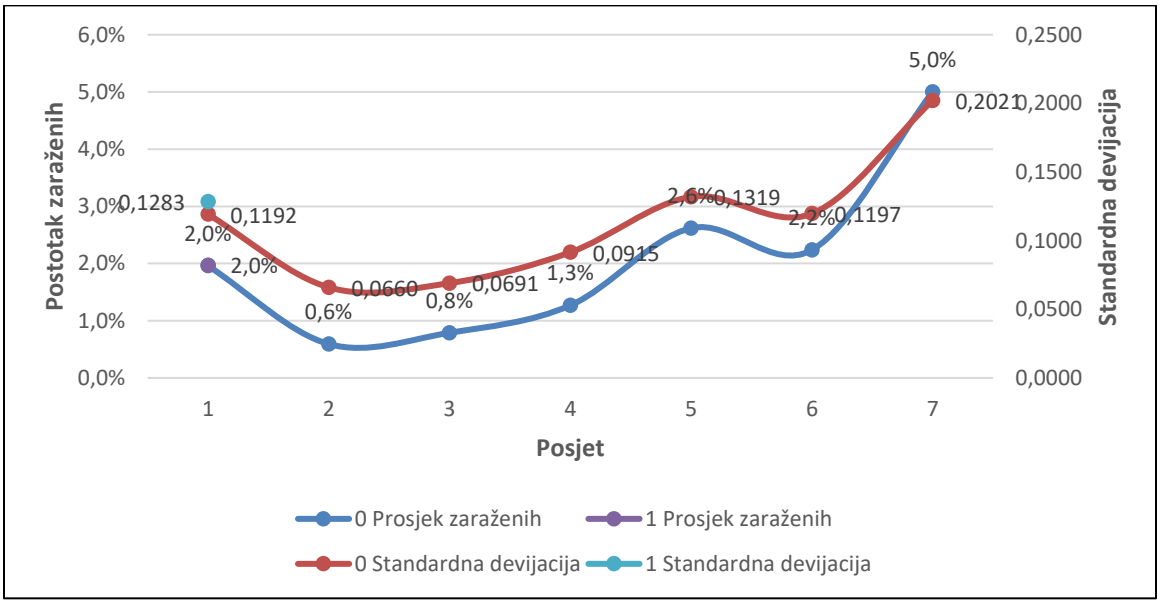
Slika 41. Varijabla 2.2 - Broj i postotak farmi koje tetoviraju (1) i koje ne tetoviraju svinje (0) tijekom sukcesivnih posjeta



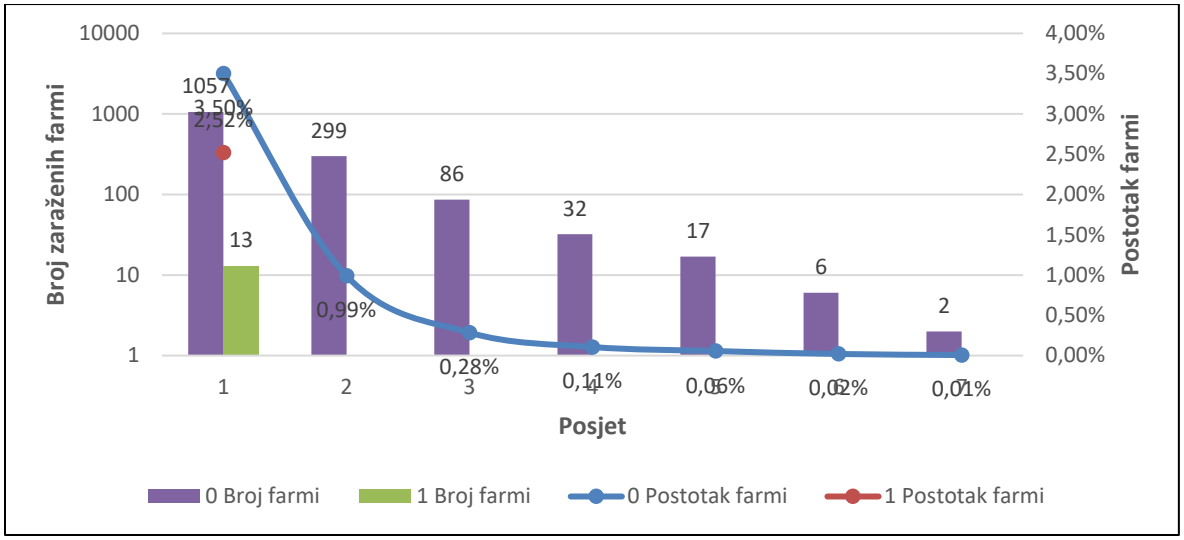
Slika 42. Varijabla 2.2 - Procjena prosječnog broja zaraženih po farmi koja tetovira (1) i ne tetovira (0) svinje tijekom sukcesivnih posjeta

Na Slikama 43. i 44. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima na kojima je zabilježen čimbenik 2.5. „Na farmi ima neoznačenih svinja, a nema krmače“. Broj pozitivnih gospodarstava s neoznačenim svinjama je vrlo mali i pada na nulu već sa 2. posjetom, tako da nije moguća dobra usporedba. Kako imamo praktično samo jednu vrijednost varijable (0) ne možemo napraviti usporedbe između 0 i 1 vrijednosti varijable već se uzorak ponaša slično ukupnoj populaciji gospodarstava. Nakon inicijalnog pada prosjeka zaraženih pri 2. posjetu, prosjek zaraženih dalje kontinuirano raste i povećava se rasipanje uzorka. Ukupan broj zaraženih je u konstantnom padu, ali prosjek zaraženih po gospodarstvu raste do 3. posjeta da bi se zatim vratio na razinu 1. posjeta.

Zbog malo podataka o posjetima, nije moguće napraviti analizu modelom za ovu varijablu.

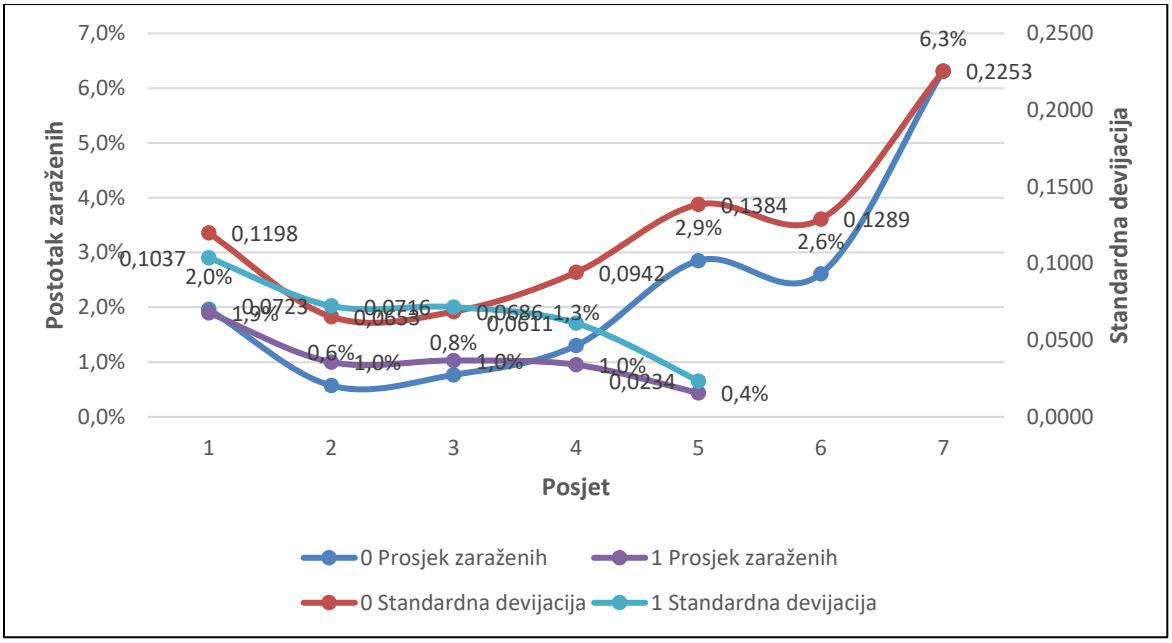


Slika 43. Varijabla 2.5. - Prosjek pozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka za farme koje imaju (1) i nemaju (0) neoznačenih svinje bez krmače tijekom sukcesivnih posjeta

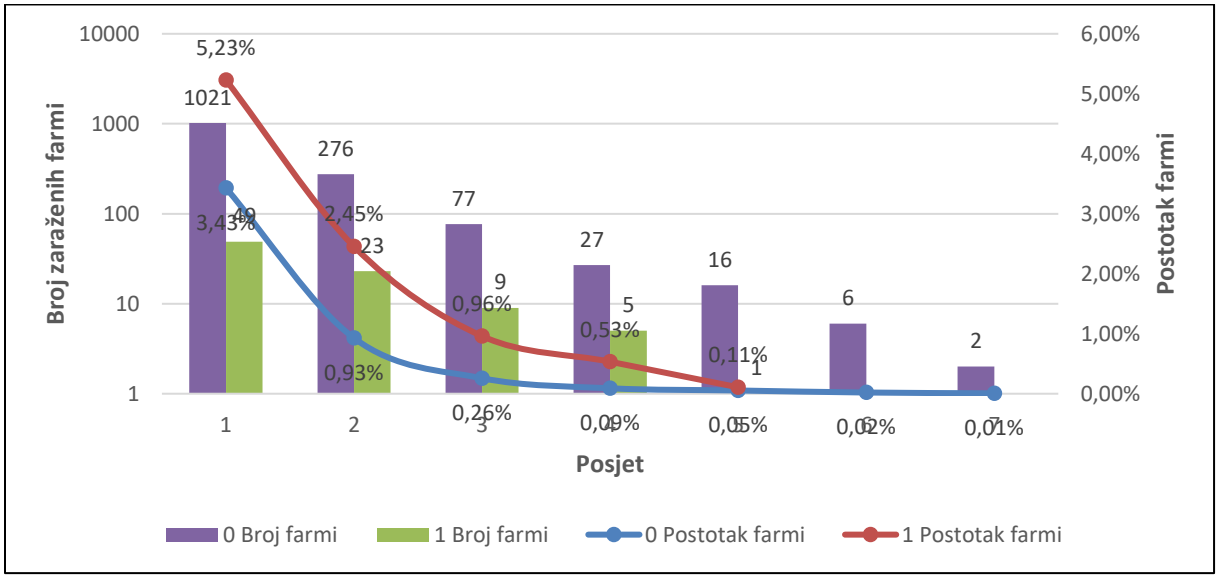


Slika 44. Varijabla 2.5. - Broj i postotak farmi koje imaju (1) i nemaju (0) neoznačenih svinje bez krmače tijekom sukcesivnih posjeta

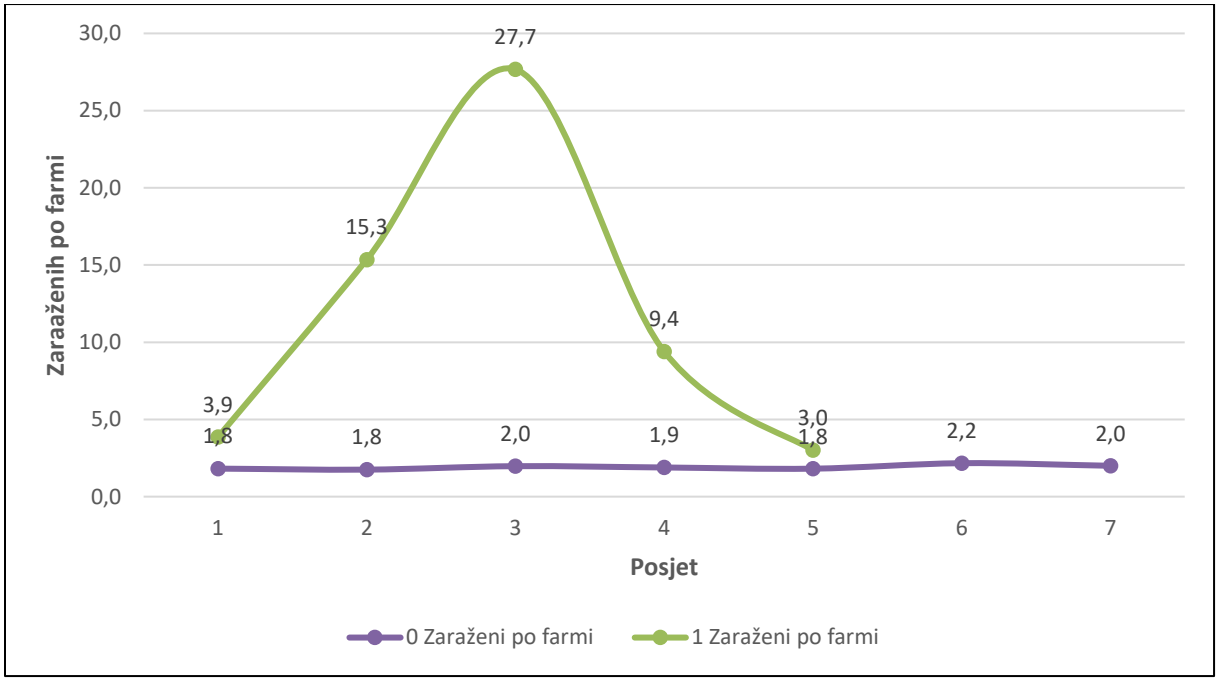
Na Slikama 45. do 47. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima na kojima su zabilježena uginuća u posljednjih 3 mjeseca tijekom posjeta (varijabla 5.5.). Do 4. posjeta nema bitne razlike u prosjeku pozitivnih gospodarstava niti u rasipanju podataka za obje vrijednosti varijable, ali postotak pozitivnih gospodarstava veći je za gospodarstava koja su imala uginuća. Za gospodarstva bez uginuća ukupan broj zaraženih konstantno pada, kao i broj zaraženih po gospodarstvu, koji je skoro konstantan uz vrlo blagi porast kako raste redni broj posjeta. Za gospodarstva s uginućima prosjek zaraženih gospodarstava kao i ukupan broj zaraženih, fluktuira tj. raste do 3. posjeta da bi do 6. posjeta pao na nulu.



Slika 45. Varijabla 5.5. - Prosjek seropozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koja su imale (1) i nisu imale (0) uginuća

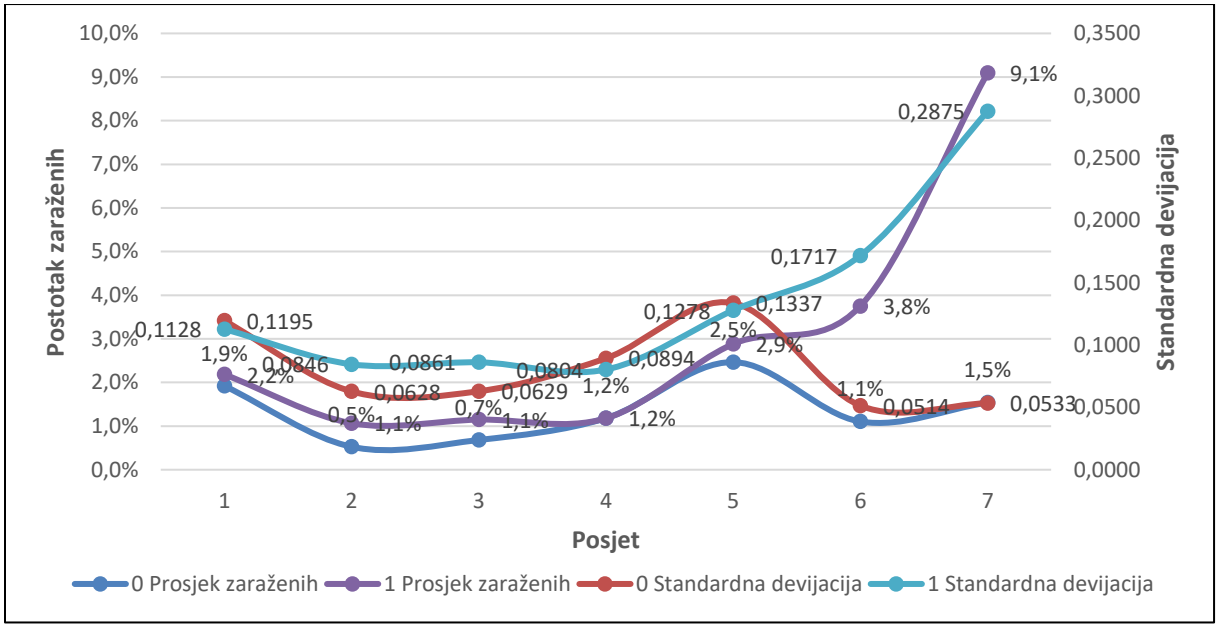


Slika 46. Varijabla 5.5. – Broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje su imale (1) i nisu imale (0) uginuća

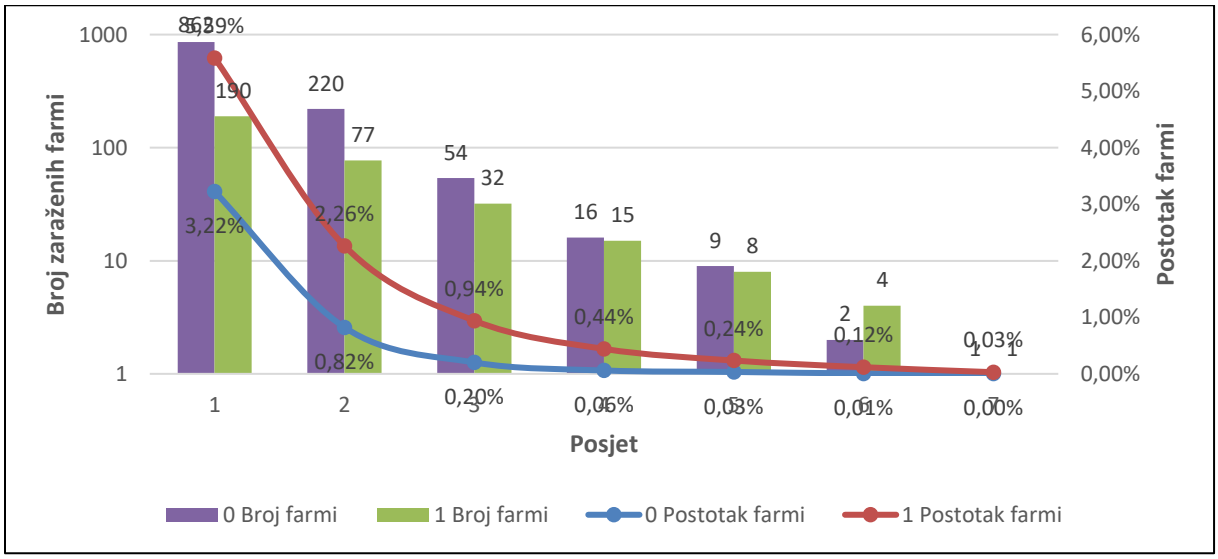


Slika 47. Varijabla 5.5. – Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje su imala (1) i nisu imala (0) uginuća

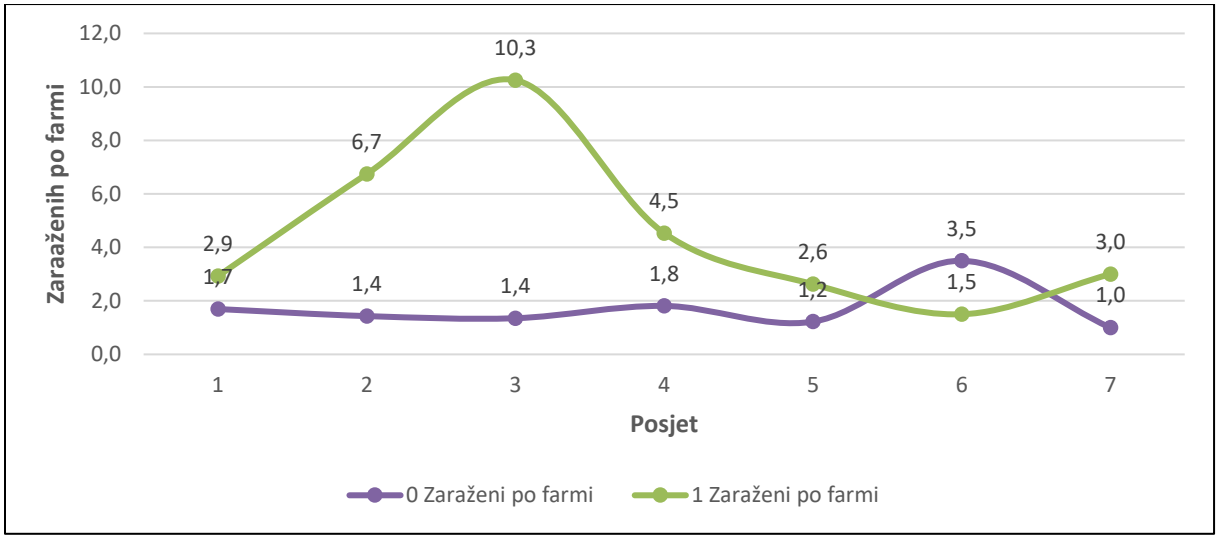
Na Slikama 48. do 50. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima za varijablu 6.7. „Prisutan nerast u vrijeme kategorizacije“. Do 5. posjeta nema bitne razlike u prosjeku zaraženih niti u rasipanju podataka za obje vrijednosti varijable što se nakon toga mijenja za gospodarstava s prisutnim nerastom i gdje prosjek značajno raste. Također je postotak zaraženih farmi veći za gospodarstva koja imaju nerasta te prosjek zaraženih po gospodarstvu s nerastom fluktuira tj. raste i pada. Za gospodarstva bez nerasta ukupan broj zaraženih konstantno pada, a broj zaraženih po gospodarstavu je skoro konstantan (osim 6. posjeta).



Slika 48. Varijabla 6.7. - Prosjek seropozitivnih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije

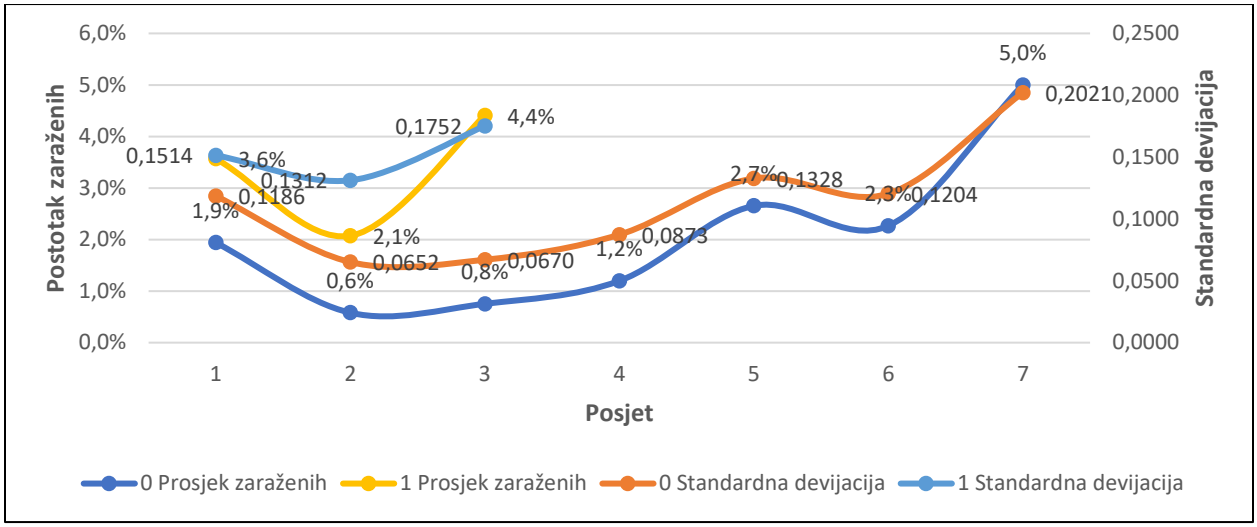


Slika 49. Varijabla 6.7. - broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije

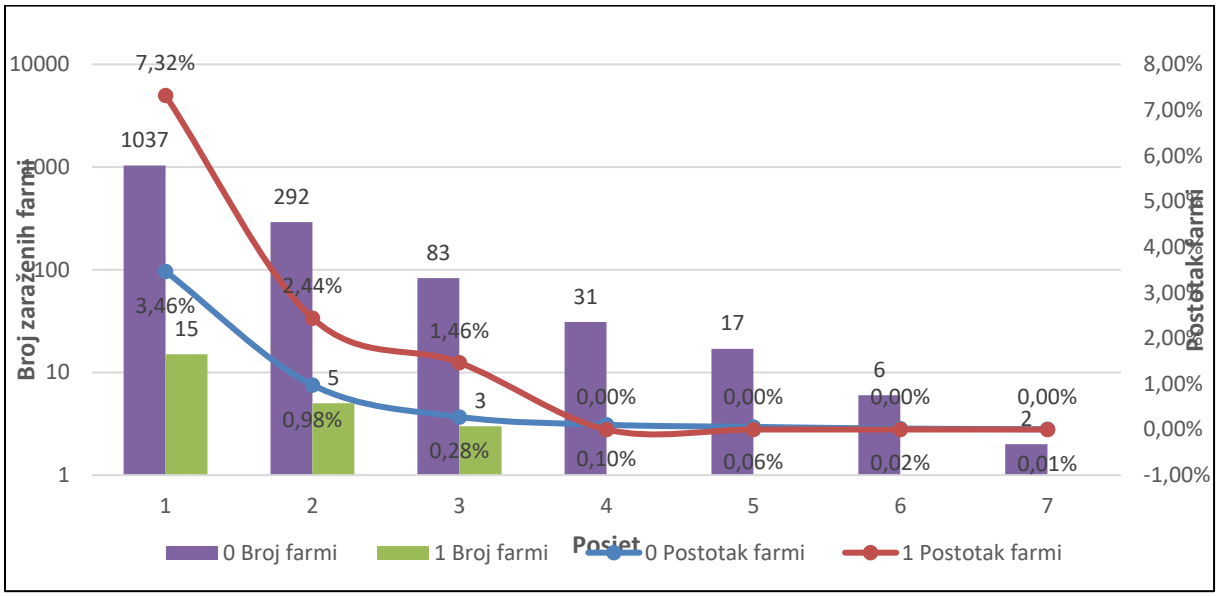


Slika 50. Varijabla 6.7. - prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima je prisutan (1) ili nije (0) prisutan nerast u vrijeme kategorizacije

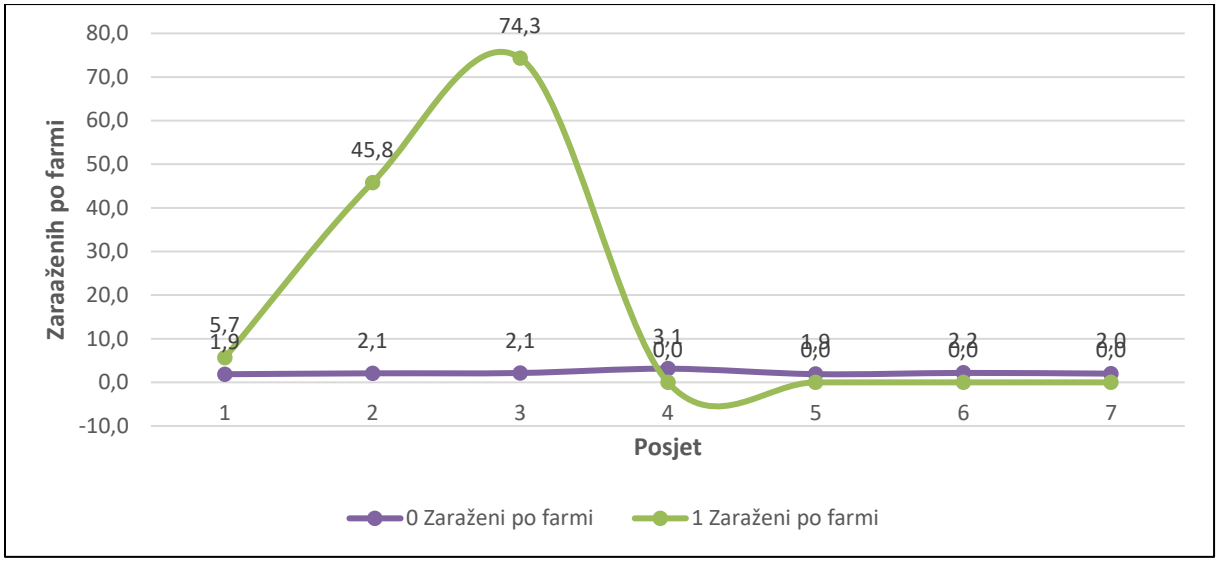
Na Slikama 51. - 53. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima za varijablu 6.17. „Držanje na otvorenom“. Nakon pada zaraženih za obje vrijednosti varijable prilikom 2. posjeta postotak zaraženih naglo raste za gospodarstva koje drže svinje na otvorenom dok je za drugu vrijednost varijable taj rast blaže kontinuiran. Prosjek zaraženih je kod 1. posjeta sličan i zatim ostaje konstantan za one koji ne drže svinje na otvorenom dok izraženo raste za one koji drže svinje na otvorenom.



Slika 51. Varijabla 6.17. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili se ne drže na otvorenom (0)

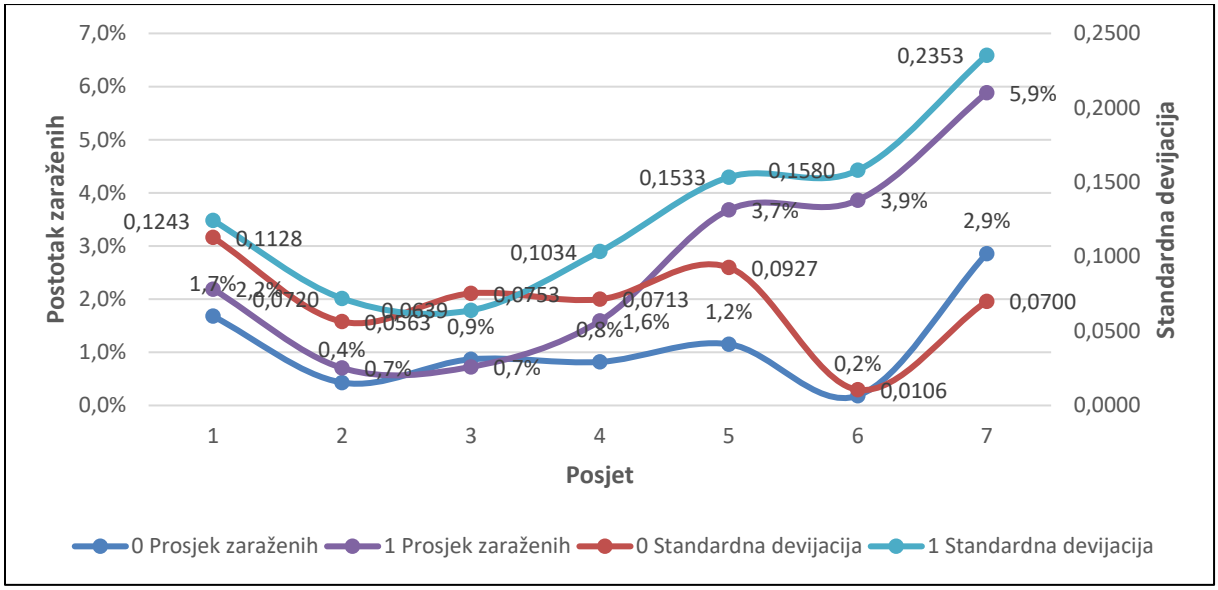


Slika 52. Varijabla 6.17. - Broj i postotak seropozitivnih farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili ne drže na otvorenom (0)

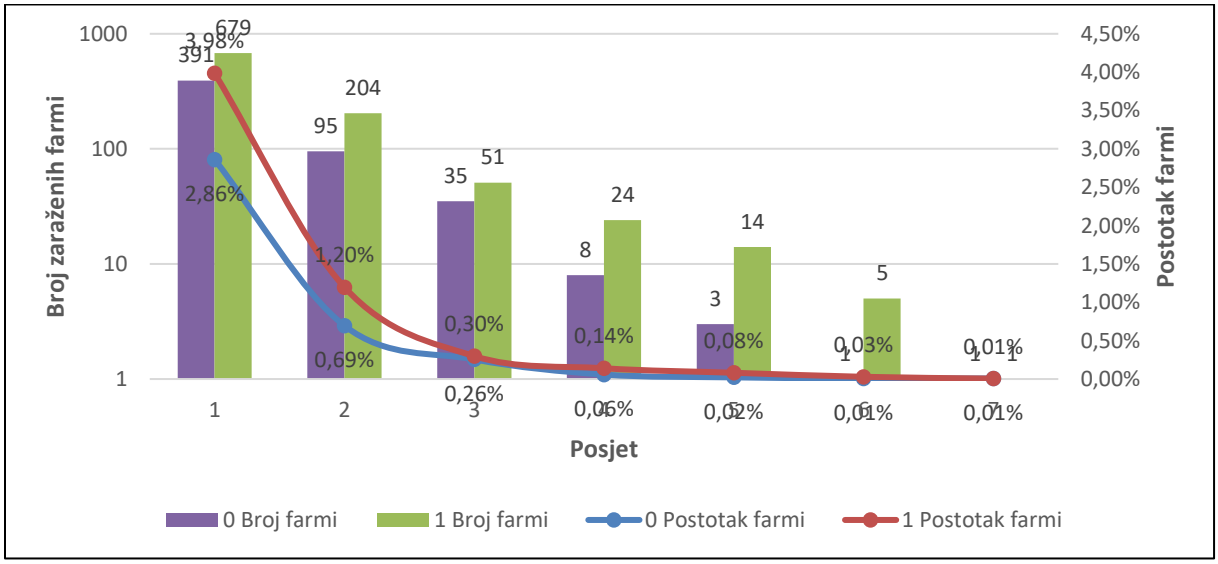


Slika 53. Varijabla 6.17. - Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme na kojima se svinje drže na otvorenom (1) ili ne drže na otvorenom (0)

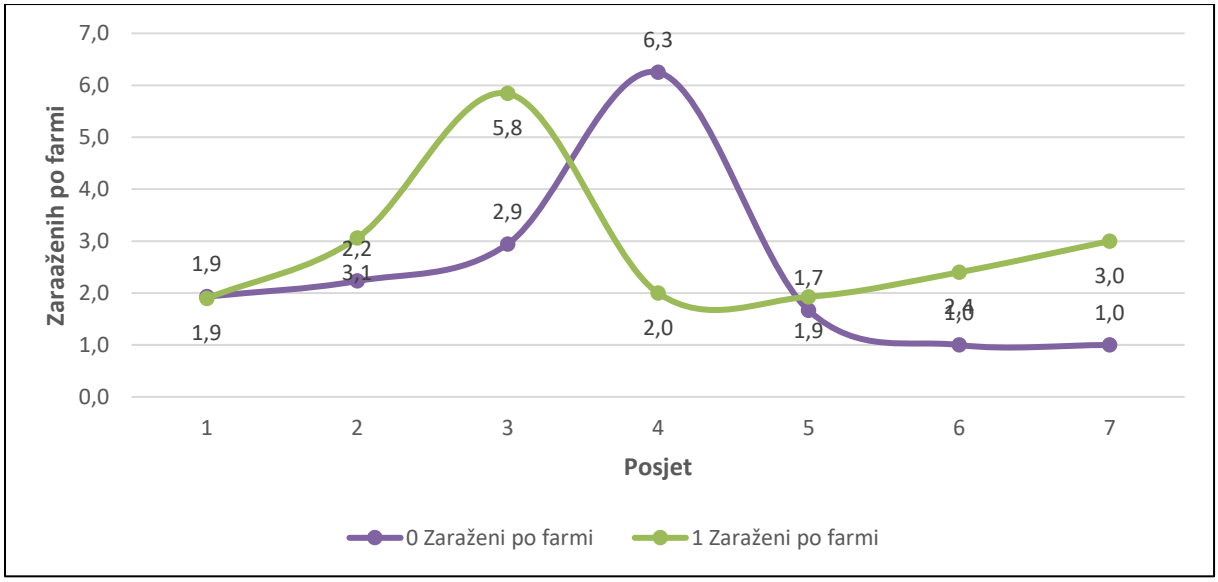
Na Slikama 54. - 56. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima za varijablu 7.6. „Hrana od drugih proizvođača“. Postotak gospodarstava sa zaraženim svinjama podjednak je za prva 3 posjeta za obje vrijednosti varijable nakon čega dolazi do osjetnog povećanja postotka zaraženih za gospodarstva koja koriste hranu drugih proizvođača. Iako postotak zaraženih gospodarstava i ukupan broj zaraženih konstantno pada za obje vrijednosti varijable, dolazi do bitnog povećanja prosjeka zaraženih po gospodarstvu nakon 2. odnosno 3. posjeta za obje vrijednosti varijable.



Slika 54. Varijabla 7.6. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača

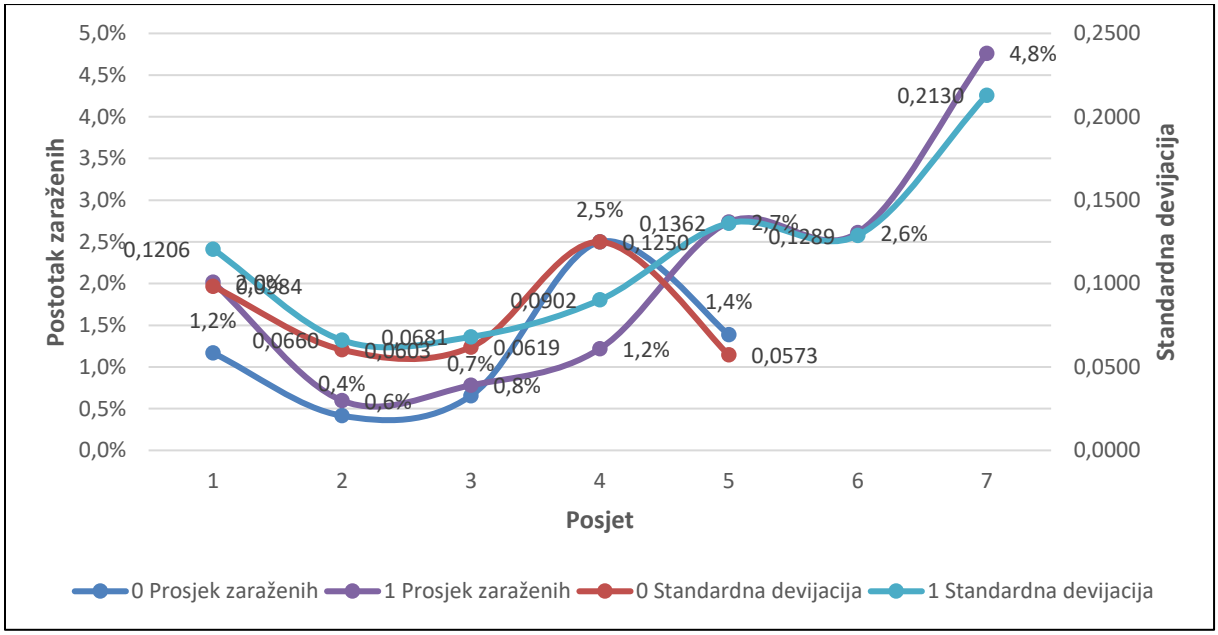


Slika 55. Varijabla 7.6. - broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača

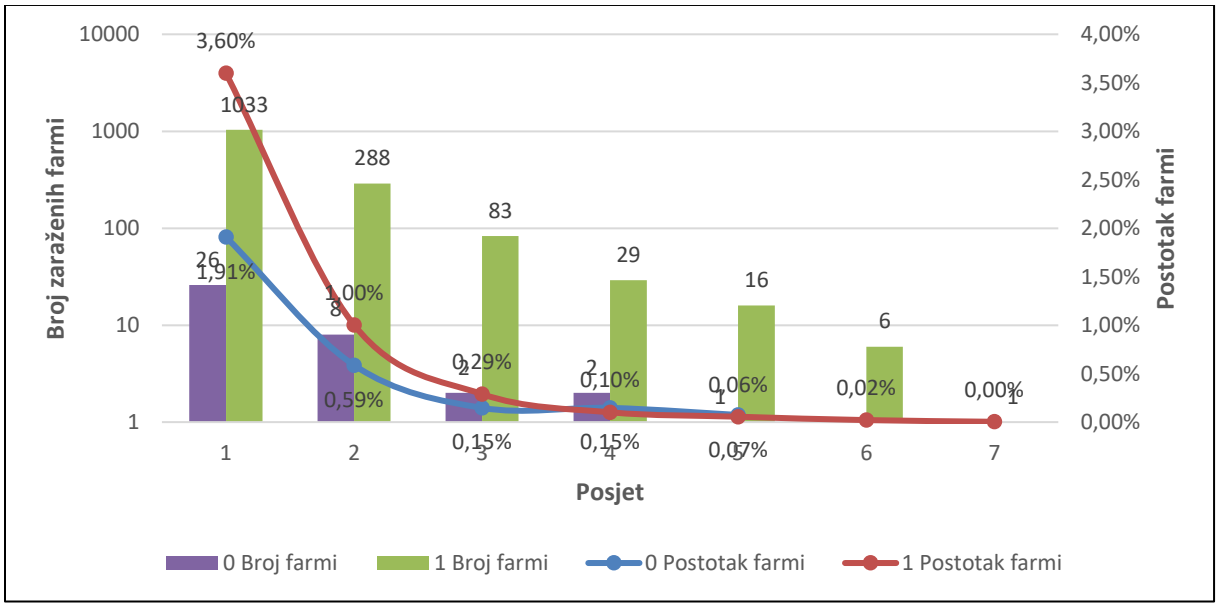


Slika 56. Varijabla 7.6. - prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nabavljaju (1) i ne nabavljaju (0) hranu od drugih proizvođača

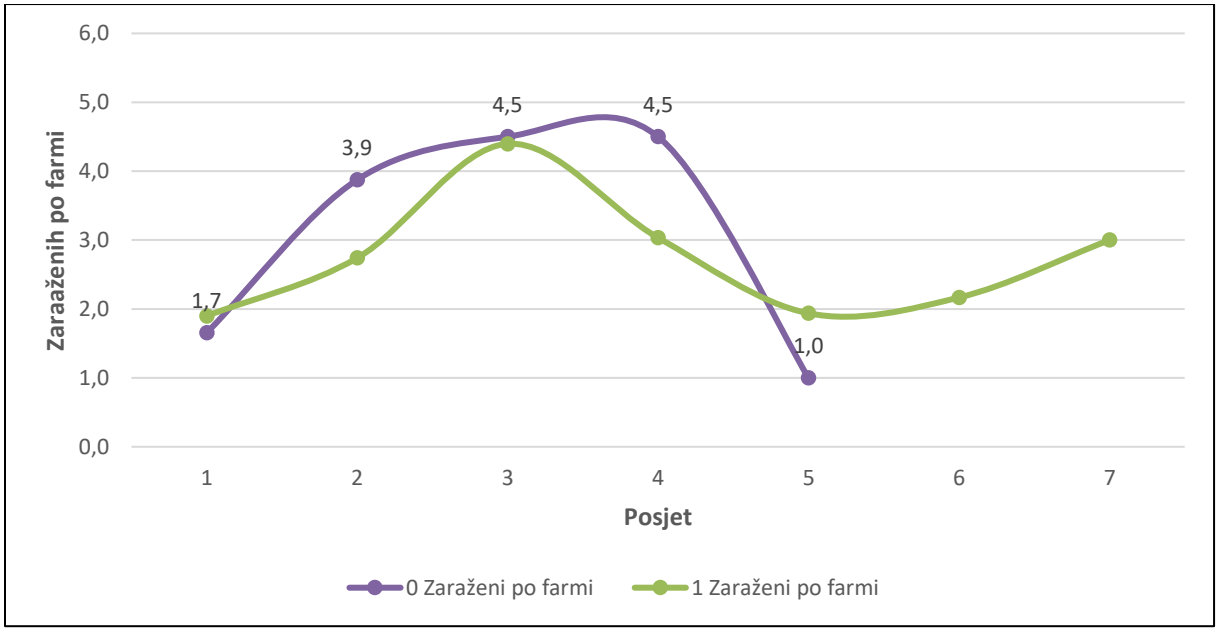
Na Slikama 57. – 59. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima za varijablu 7.9. „Proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu“. Postotak gospodarstava koja proizvode stelju nakon 2. posjeta kontinuirano raste i to nešto brže za gospodarstva koja ne proizvode stelju. Primjetan je kontinuirani rast postotka zaraženih po gospodarstvu za obje vrijednosti varijable.



Slika 57. Varijabla 7.9. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju

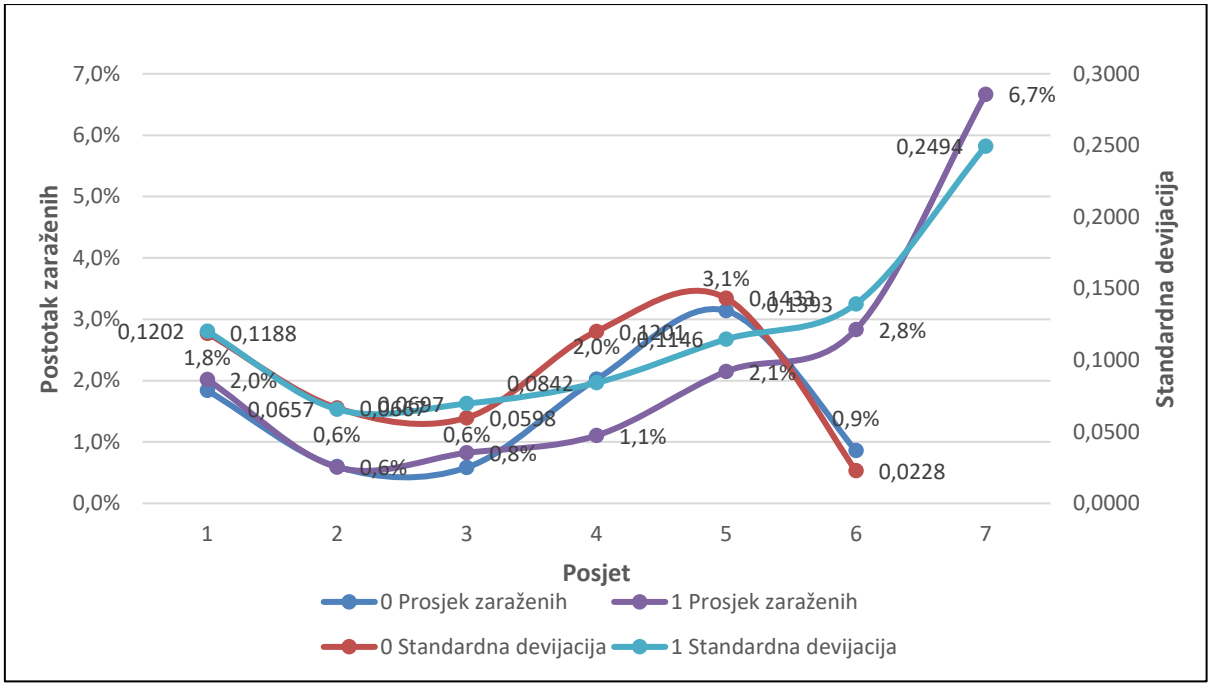


Slika 58. Varijabla 7.9. – broj i postotak zaraženih farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju

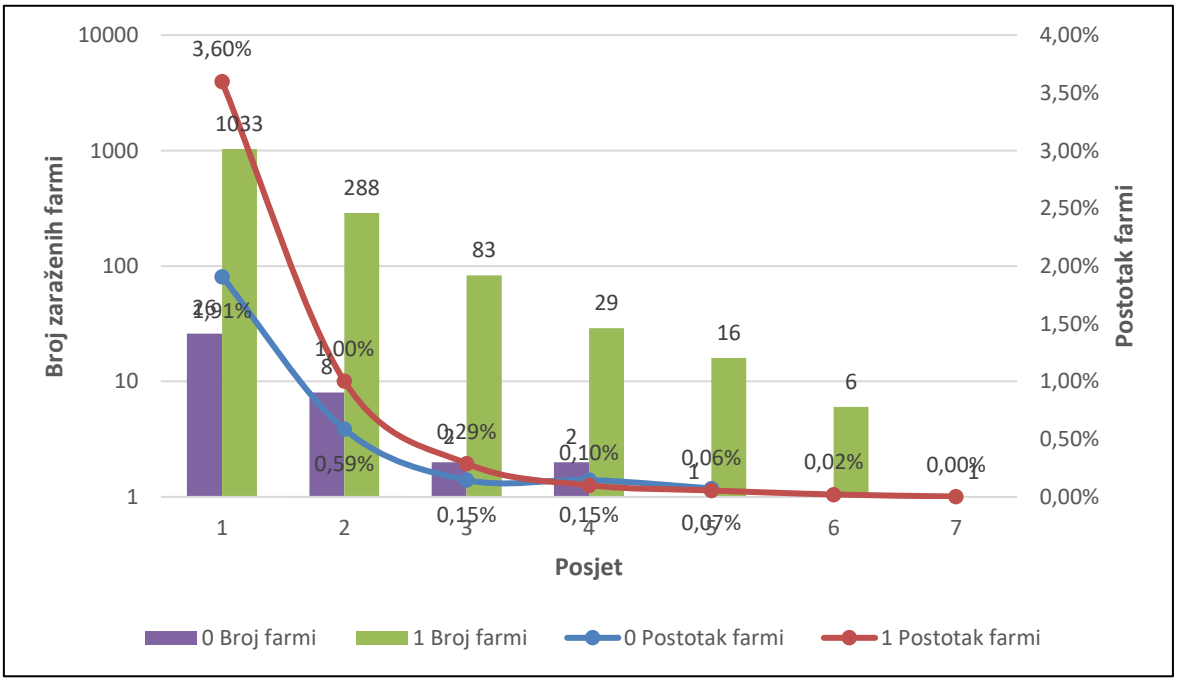


Slika 59. Varijabla 7.9. – Prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje proizvode (1) i ne proizvode (0) vlastitu stelju

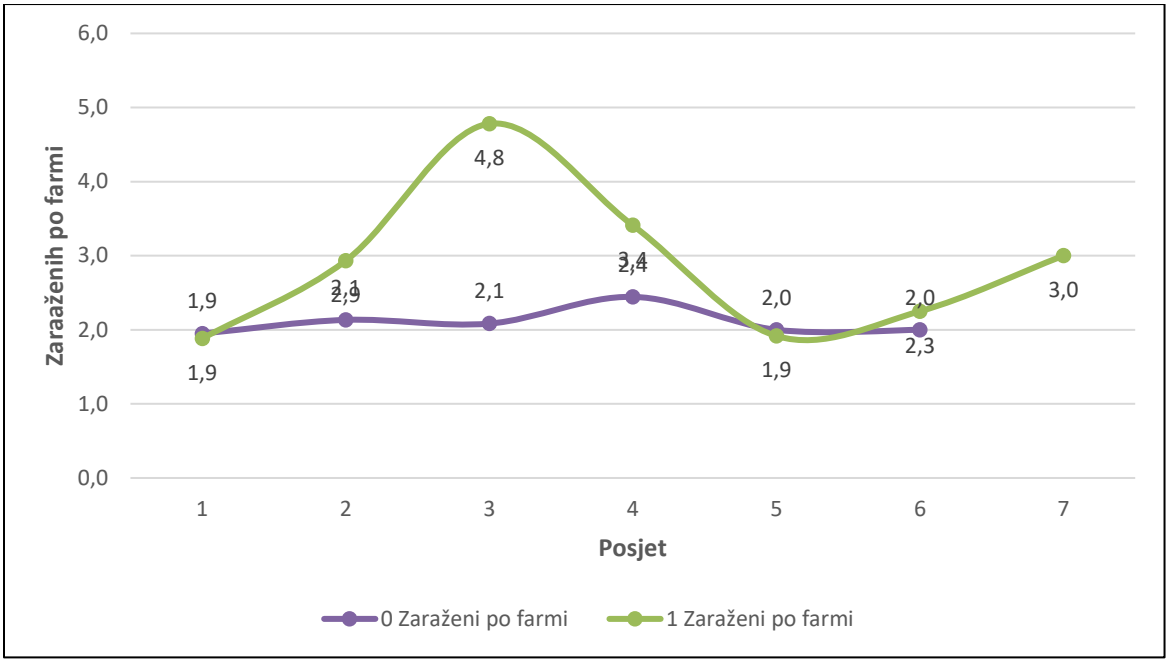
Na Slikama 60. – 62. prikazano je kretanje prosječnog broja pozitivnih gospodarstava kao i broj pozitivnih svinja po gospodarstvu na gospodarstvima za varijablu 7.11. „Odgovarajuće skladištenje stelje i zaštita od štetnika“. Do 4. posjeta nema bitne razlike u prosjeku zaraženih niti u rasipanju podataka za obje vrijednosti varijable, kao niti u postotku zaraženih gospodarstava. Nakon toga prosjek zaraženih gospodarstava i rasipanje podataka jače povećava kod onih gospodarstava koja nemaju odgovarajuće skladištenje stelje na otvorenom.



Slika 60. Varijabla 7.11. - Prosjek zaraženih farmi i rasipanje vrijednosti oko prosjeka tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika



Slika 61. Varijabla 7.11. – Broj i postotak farmi tijekom sukcesivnih posjeta koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika



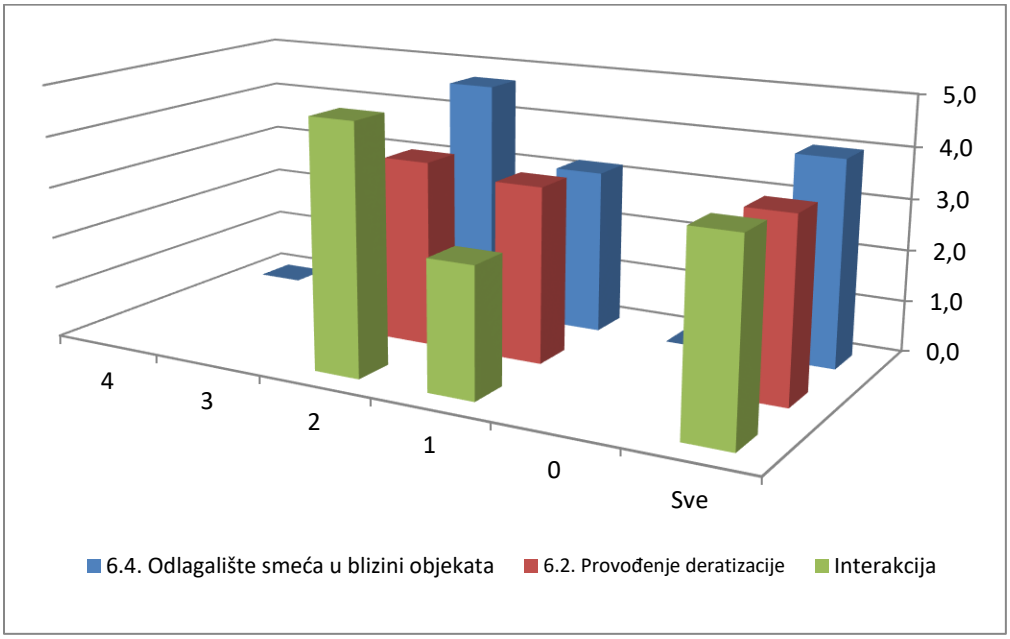
Slika 62. Varijabla 7.11. – prosječan broj zaraženih po farmi tijekom sukcesivnih posjeta za farme koje nemaju zaštitu od štetnika (1) i koje imaju (0) zaštitu od štetnika

5.7. Rezultati analize međudjelovanja rizičnih čimbenika i procjene moguće konfaunding varijable

Primjenom modela analizirao se učinak koji nastaje međusobnim djelovanjem čimbenika (varijabli) koji zajednički mogu pokazati jači učinak, odnosno da jedna varijabla utječe na jači učinak druge ili pak da te dvije varijable ukoliko im je gospodarstvo izloženo u isto vrijeme, mogu dovesti do pojave i širenja bolesti Aujeszkoga na gospodarstvu. Pratila se dinamika po broju pozitivnih gospodarstva u svim kategorijama ukupno, ali i unutar pojedinih kategorija. Modelom je prisutnost varijable na gospodarstvu iskazana kao „1“, a kada nije prisutna kao „0“. Ukoliko je u pojedinoj kombinaciji bilo manje od 10 gospodarstava, to se smatralo premalim brojem gospodarstava u uzorku za interakciju.

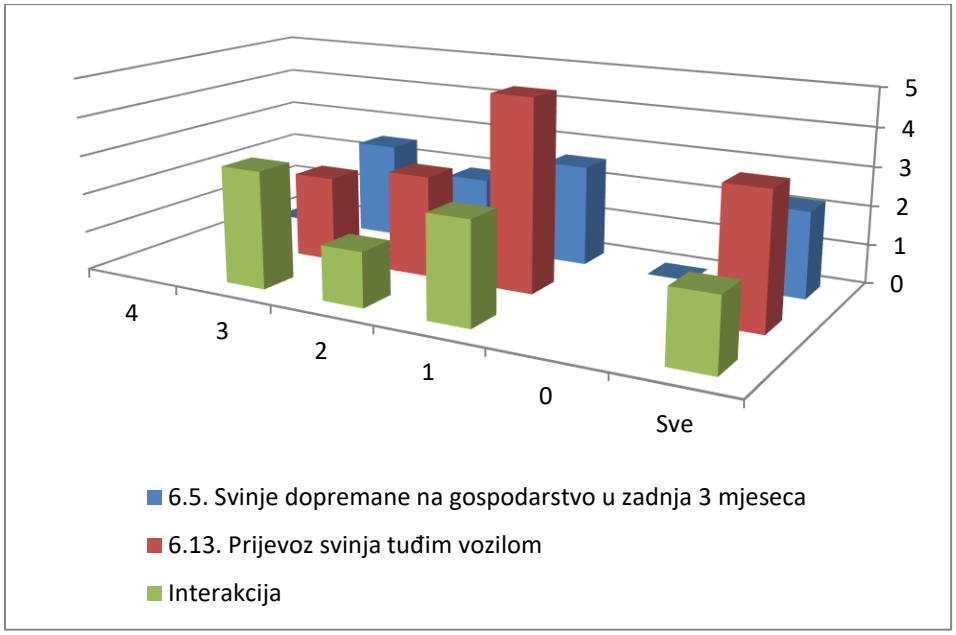
Rezultati su prikazani kao udio pozitivnih gospodarstva i udio pozitivnih uzoraka po gospodarstvu kao i prosječan broj pozitivnih uzoraka po pozitivnom gospodarstvu. Modelom se može analizirati i uspoređivati svaki čimbenik (varijabla) sa ostalih 83, a u rezultatima su prikazane one interakcije koje su pokazale značajni pozitivni ili pak negativni učinak na razini gospodarstava (Slike 63. do 70.).

Najveća interakcija za kombinaciju varijabli 6.4. = 1 i 6.2. = 1 je u kategoriji 2, a interakcija je uočena također ako se gledaju sve kategorije ukupno (Slika 63.)



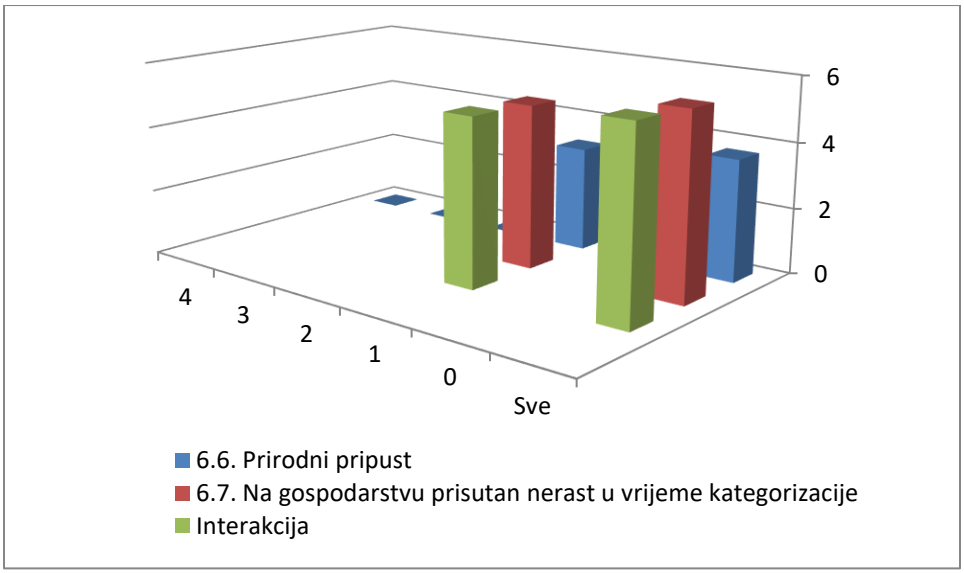
Slika 63. Utjecaj deratizacije na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima u blizini odlagališta smeća po kategorijama

U odnosu na prijevoz svinja, varijable 6.5. = 1 i 6.13. = 1, vidljiva je interakcija u kategorijama 1, 2 i 3 (Slika 64.).



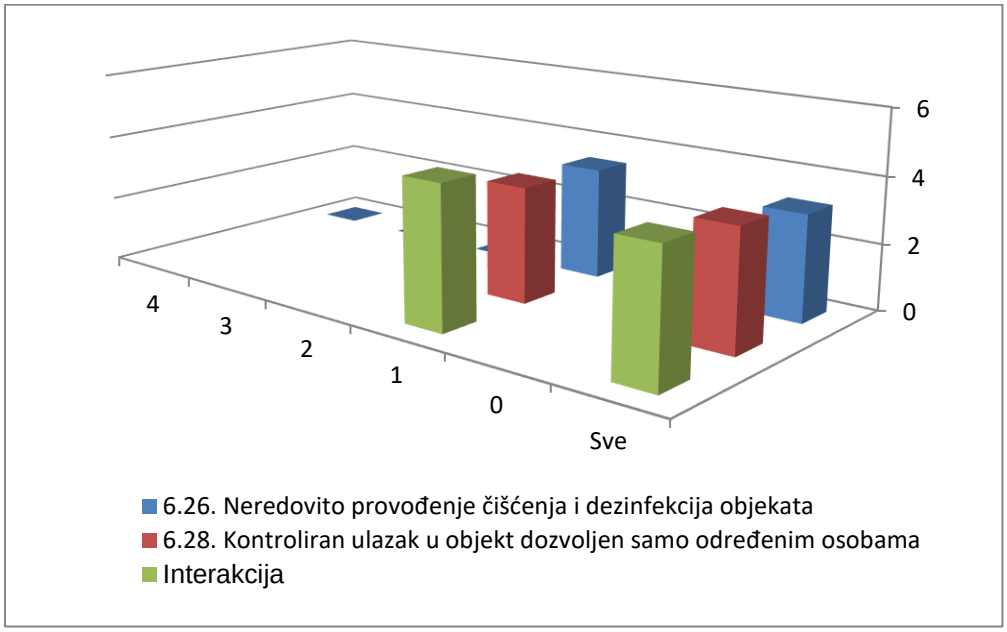
Slika 64. Utjecaj prijevoza svinja na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama

Za varijable u odnosu na reprodukciju svinja, 6.6. = 1 i 6.7. = 1, interakcija je zabilježena u kategoriji 1 (Slika 65.).

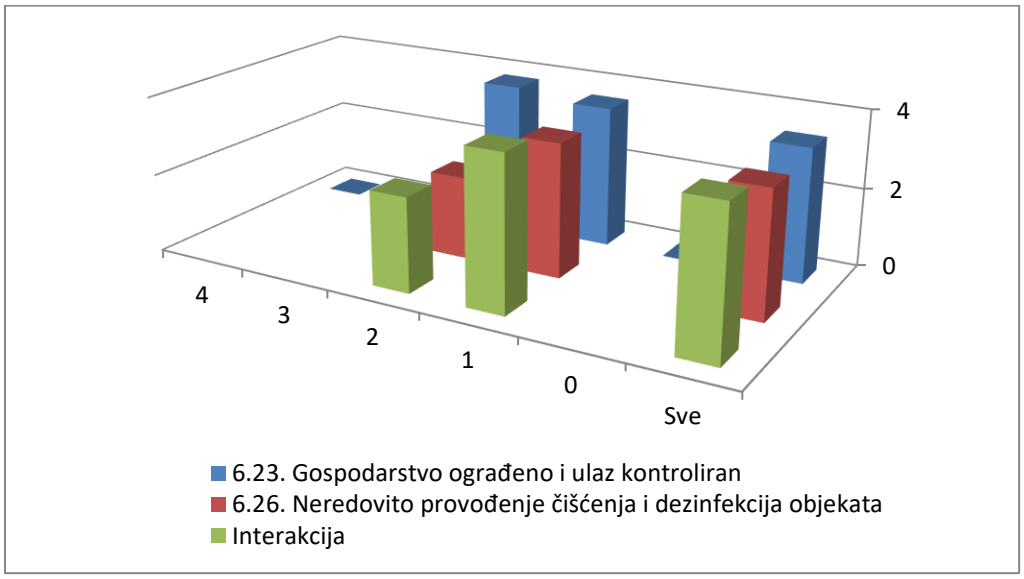


Slika 65. Utjecaj prirodnog pripusta na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama

Utjecaj neredovitog čišćenja i dezinfekcije, kontrole ulaska i ograde oko gospodarstva, interakcije su zabilježene za varijable 6.26. = 0 i 6.28. = 1 (Slika 66.) te za varijable 6.26. = 0 i 6.23. = 1 (Slika 67.).

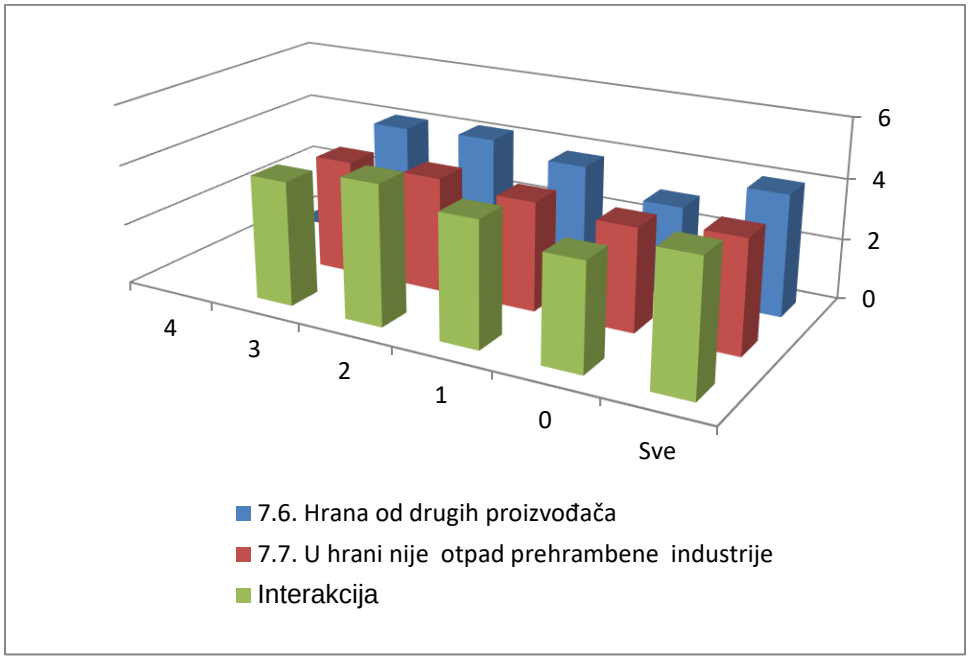


Slika 66. Utjecaj neredovitog čišćenja i dezinfekcije te kontrole ulaska na pojavu bolesti Aujeszkoga po kategorijama

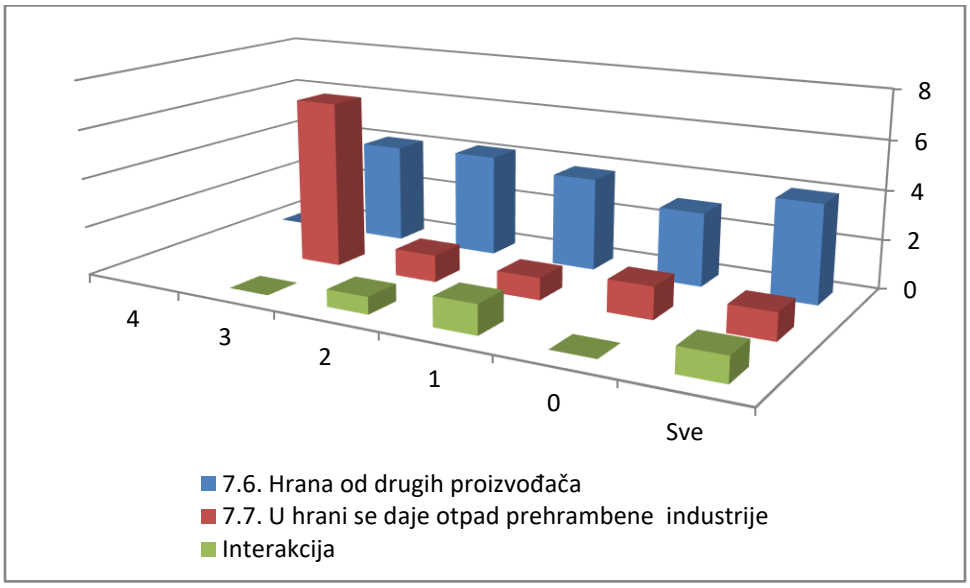


Slika 67. Utjecaj neredovitog čišćenja i dezinfekcije te ograde i kontrole ulaska na pojavu bolesti Aujeszkoga po kategorijama

Kada se prati interakcija varijabli u odnosu na hranidbu svinja i to za varijable 7.6. = 1 i 7.7. = 0 (Slika 68.) te varijable 7.6. = 1 i 7.7. = 1 (Slika 69.) interakcija je vidljiva u svim kategorijama osim kategoriji 4.

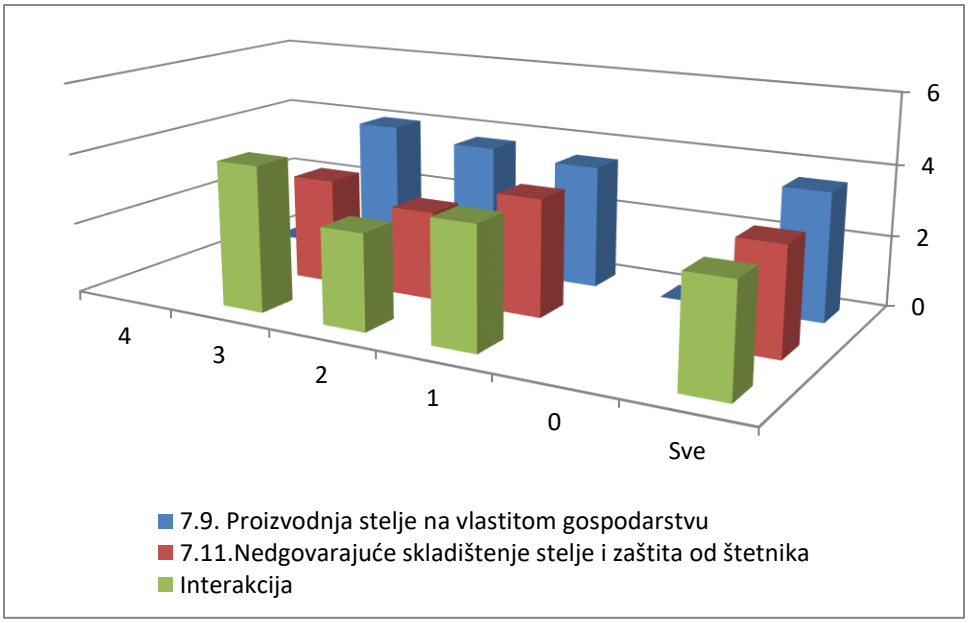


Slika 68. Utjecaj hranidbe na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 1



Slika 69. Utjecaj hranidbe na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama 2

Stelja i njeno skladištenje nađeno je kao rizični čimbenik (Tablica 30.), a u interakciji je vidljivo da ukoliko se stelja proizvodi na vlastitom gospodarstvu (varijabla 7.9. = 1), ali se neodgovarajuće skladišti (varijabla 7.11 = 0) to može imati nepovoljan utjecaj u smislu širenja bolesti Aujeszkoga (Slika 70.).



Slika 70. Utjecaj proizvodnje i skladištenja stelje na pojavu bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima po kategorijama

6. RASPRAVA

Bolest Aujeszkoga u Hrvatskoj dobiva na većem značaju 2013. godine ulaskom Republike Hrvatske u Europsku uniju. Obzirom na europsku legislativu i činjenicu da je većina država članica slobodna od ove bolesti, da bi se svinje s našeg područja mogle otpremati u te države članice bilo je potrebno udovoljiti dodatnim jamstvima u odnosu na bolest Aujeszkoga, prvenstveno da svinje potječu s gospodarstava slobodnih od bolesti Aujeszkoga (ANONIMUS, 2008.). Iste godine Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede, uspostavlja prvi nacionalni Program nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga kojim je omogućeno uzorkovanje svinja i testiranje na bolest Aujeszkoga u skladu s tadašnjom legislativom (MALTAR, 2014.).

Do 2013. godine bolest Aujeszkoga prijavljivala se sporadično, uslijed pojave kliničkih znakova bolesti ili prilikom slučajnog potvrđivanja u okviru diferencijalne dijagnostike uglavnom klasične i afričke svinjske kuge, a jedino planirano aktivno nadziranje bolesti Aujeszkoga provedeno je u 2011. godini na 9407 krvnih seruma svinja (ROIĆ i sur., 2013.). Tijekom iste studije u seropozitivnih svinja potvrđen je i virus bolesti Aujeszkoga čime je i etiološki dokazana njegova cirkulacija u populaciji domaćih svinja u Republici Hrvatskoj. Program nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga od 2013. godine provodi se kontinuirano većim ili manjim opsegom, obuhvaćajući najmanje gospodarstva na kojima se drže rasplodne svinje. Budući je provedba nadziranja i iskorjenjivanja započela u studenom 2013. godine u toj godini obuhvaćeno je samo 1034 gospodarstava no usprkos tome utvrđeno je 38 pozitivnih gospodarstava (Prilog 4). Kako je primarni cilj nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga bio ostvarivanje statusa gospodarstva slobodno od bolesti Aujeszkoga, svako gospodarstvo na kojem je pronađena barem jedna serološki pozitivna svinja proglašavalo se pozitivnim na bolest Aujeszkoga te su se obavezno na takvim gospodarstvima provodile mjere kontrole bolesti (klanje pozitivnih svinja i dvokratno testiranje preostalih svinja). Usporedno s aktivnim nadziranjem u domaćih svinja, provodilo se i pasivno nadziranje bolesti Aujeszkoga u domaćih svinja i u drugih životinja te je prema prijavljenim slučajevima (Tablica 1.) također razvidno da virus bolesti Aujeszkoga cirkulira, prvenstveno u populaciji divljih svinja, što je temeljeno na sporadičnim pozitivnim nalazima u uzorcima uginulih lovačkih pasmina pasa koji su se najvjerojatnije zarazili nakon bliskog kontakta s divljim svinjama. U uzorcima divljih svinja zaprimljenih u službeni laboratorij u okviru drugih programa nadziranja

također su se potvrdili i serološki pozitivni uzroci. Tipizacija virusa bolesti Aujeszkoga u divljih svinja u Hrvatskoj opisana je u radu KEROS i sur. (2015.).

Program nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga 2013. - 2021. bio je dizajniran na način da se omogući uzorkovanje na gospodarstvima sa svinjama kako bi se gospodarstvima s negativnim rezultatima dodijelio status slobodno od bolesti Aujeszkoga sukladno odredbama europske legislative, a na gospodarstvima na kojima se utvrde pozitivne svinje, provelo iskorjenjivanje. To je značilo da su se pretraživala sva gospodarstva na kojima se drže svinje i to prvenstveno rasplodne te se gospodarstva za uzorkovanje nisu odabirala nasumično. Zbog navedenoga u procjeni prevalencije i tumačenju rezultata treba uzeti u obzir i moguću pristranost (bias) s obzirom na obuhvat pretraženih gospodarstava na nekom području (županiji), odabir samih gospodarstava, pokrivenost određenih područja veterinarskom službom, dostupnost gospodarstava i sl. U odnosu pak na prevalenciju unutar samog gospodarstva (eng. within herd prevalence) i činjenicu da se veličina uzorka određivala ovisno o uzgojnoj kategoriji svinja i dinamici uzorkovanja u odnosu na procijenjenu prevalenciju od 2%, 5% i 10% pri CI 95%, mogućnost utjecaja pristranosti na rezultate na razini životinja je neznatna (CHRISTENSEN i sur., 2000.).

Kako je program imao za cilj identificirati pozitivna gospodarstva s najmanje jednom svinjom pozitivnom na bolest Aujeszkoga i to odmah pri prvom testiranju ELISA testom, računalo se na visoku osjetljivost dijagnostičkog testa (99%) te se nisu provodili dodatni potvrdni testovi kako bi se utjecalo na veću specifičnost (GREINER i GARDNER, 2000.). Postoji mogućnost da se neko gospodarstvo klasificiralo kao pozitivno, iako se možda radilo o lažno pozitivnom rezultatu, što se u početku provedbe iskorjenjivanja uobičajeno smatra prihvatljivim no suprotno tome, mogućnost da je neko gospodarstvo pretraženo kao lažno negativno je u ovoj fazi iskorjenjivanja zanemariva. Činjenica da kroz istraživano razdoblje nije provedeno pretraživanje cjelokupne populacije domaćih svinja, odnosno da se nadziranje nije provodilo na reprezentativnom uzorku, ostavlja mogućnost za precijenjenu ili podcijenjenu utvrđenu prevalenciju bolesti Aujeszkoga. Unatoč tome što je kroz istraživano razdoblje broj pretraženih gospodarstava varirao, ipak je vidljivo opadanje broja pozitivnih gospodarstava kroz godine istraživanog razdoblja te se ipak na temelju dobivenih i analiziranih rezultata može smatrati da je prevalencija bolesti Aujeszkoga u Republici Hrvatskoj ispod 4%, a vjerojatno između 2% i 1%. Međutim, usprkos tako relativno niskoj prevalenciji, posebno imajući u vidu dokaze cirkulacije virusa bolesti Aujeszkoga u populaciji divljih svinja te činjenicu da je u Hrvatskoj od ukupno 72.144 gospodarstava do 31. 12. 2021. samo 27.672

gospodarstva slobodno od ove bolesti, postavlja se pitanje mogućih čimbenika koji mogu utjecati na održavanje infekcije virusom bolesti Aujeszkoga u populaciji domaćih svinja, posebno uviđajući da je prevalencija od 2017. godine na prosječnoj razini od 1,13% (1,37% - 0,67%). Činjenica da se prevalencija tijekom istraživanog razdoblja razlikuje po županijama (Slika 17.) i kategorijama gospodarstava u odnosu na biosigurnost, dodatno potkrjepljuje ovo pitanje.

U istraživanjima provedenim u drugim državama utvrđena je visoka prevalencija bolesti Aujeszkoga prije i na samom početku njezinog iskorjenjivanja, a prema KRETZSCHMARU (1970.) je u njemačkim tovilištima prevalencija bila 93%. S obzirom da prevalencija bolesti Aujeszkoga ovisi o primijenjenoj veličini uzorka, svrsi testiranja i dizajnu programa, rezultati prilično variraju. Smatralo se da je prevalencija bolesti Aujeszkoga krajem prošlog stoljeća bila od 30 do 40% i to usprkos cijepljenju (VANNIER i sur., 1991.). Prevalencija u malim uzgojima na području Vojvodine procijenjena je na 32.72% (PUŠIĆ i sur., 2009.). ALLEPUZ i sur. (2009.) u svojem radu navode prevalenciju u uzgojima s krmačama na početku iskorjenjivanja od 58.9%, zatim nakon 2-3 godine 23.4% te nakon 4 godine prevalenciju od 9.7%, dok je u populaciji tovljenika prevalencija na početku bila 17,1%, a na kraju istraživanog razdoblja 8,5%. HU i sur. (2016.) u svojoj presječnoj studiji navode prevalenciju na razini stada (gospodarstava) od 25% te da je prevalencija bila viša u uzgojima od 50-100 krmača nego u većim uzgojima. Razlika prevalencije unutar uzgojnih kategorija u Hrvatskoj nije utvrđena jer se uzorkovanje na bolest Aujeszkoga primarno provodilo u rasplodnih svinja, budući se smatralo da latentno zaražene rasplodne svinje značajno utječu na širenje virusa bolesti Aujeszkoga unutar i izvan gospodarstva. Također, obzirom na činjenicu da se u intenzivnoj tovnoj proizvodnji odojci uglavnom unose u Republiku Hrvatsku iz država slobodnih od infekcije virusom bolesti Aujeszkoga te se stoga ne očekuje da će intenzivna gospodarstva s tovnim svinjama imati utjecaj na širenje bolesti Aujeszkoga, takva gospodarstva pretraživala su se samo na zahtjev posjednika, uglavnom u svrhu premještanja svinja u države članice Europske unije sa slobodnim statusom.

U Republici Hrvatskoj je studijom iz 2011. godini pretraživanjem 9407 krvnih seruma svinja sa 124 gospodarstava s rasplodnim svinjama gdje se drži 50 i više krmača i nazimica i 154 gospodarstava s tovnim i miješanim uzgojima svinja s 500 i više životinja, utvrđeno 4,4% serološki pozitivnih uzoraka na gpB te 1,88% na gpI (ROIĆ i sur., 2013.), dok je u početku nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga tijekom 2014. godine utvrđena prevalencija na razini gospodarstava 4,66%, a na razini životinja (uzoraka) 1,93%, što odgovara i prevalenciji utvrđenoj

prvom studijom iz 2011. Na razini životinja, prevalencija u istraživanom razdoblju varira ovisno o broju pretraženih gospodarstva i uzoraka, a kako broj pozitivnih životinja na pojedinom gospodarstvu utječe na ukupnu prevalenciju, kao što je to primjerice zabilježeno u 2020. godini, vidljivo u Osječko-baranjskoj županiji u kojoj je utvrđeno 422 pozitivna uzorka na samo dva gospodarstva (Prilog 4).

Budući je nadziranje i iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga bilo koncipirano na otkrivanju pozitivnih (zaraženih) gospodarstava, u ovom radu analiza je usmjerena na procjenu djelovanja rizičnih čimbenika na razini gospodarstava.

Na temelju podataka o provedenom testiranju u istraživanom razdoblju zaključuje se da se prevalencija bolesti Aujeszkoga smanjila s 4,66% u 2014. godini na 1,03% u 2021. godini (Slika 18.) primjenom strategije iskorjenjivanja na način da su se pronalazile pozitivne svinje koje su se zatim izlučivale iz uzgoja. Međutim, važno je spomenuti da u redovno godišnje aktivno nadziranje bolesti Aujeszkoga tijekom 2018. – 2021. nisu bila uključena slobodna gospodarstva što može predstavljati prazninu u spoznaji o stvarnom statusu slobodnih gospodarstava u odnosu na bolest Aujeszkoga. Poznato je da se usporedno sa smanjivanjem prevalencije povećava osjetljivost populacije na infekciju virusom bolesti Aujeszkoga virus ponovo može proširiti u slobodnim područjima (PENSAERT i MORRISON, 2000.). Kontinuirano sporadično potvrđivanje bolesti Aujeszkoga u prethodno slobodnim državama podupire ovu spoznaju (ANONIMUS, 2020.). Otkrivanje novih, potencijalno virulentnijih sojeva virusa bolesti Aujeszkoga, poput MdBio divljeg tipa virusa izoliranog u Srbiji (ZSOLT i sur., 2019.) također je dodatni rizik i novi izvor infekcije za populaciju domaćih svinja.

U ovom radu analizirali su se čimbenici rizika za pojavu i širenje bolesti Aujeszkoga te njihova međusobna interakcija kako bi se omogućilo dizajniranje programa nadziranja i iskorjenjivanja na osnovu rizika, što je posebno važno u svrhu dokazivanja slobodnog statusa za čitavo državno područje. Utvrđivanje rizičnih čimbenika omogućuje bolje razumijevanje proširenosti virusa bolesti Aujeszkoga temeljem čega je moguće procijeniti, odnosno predvidjeti, na kojim je gospodarstvima vjerojatnost pojave bolesti Aujeszkoga veća.

Analizirajući prostornu proširenost bolesti Aujeszkoga u Republici Hrvatskoj, osim nekoliko pozitivnih gospodarstava u Istarskoj županiji i jednog gospodarstva u Splitsko-dalmatinskoj županiji u razdoblju od 2014. do 2015. godine, vidljivo je da je bolest Aujeszkoga proširena primarno u kontinentalnom dijelu Republike Hrvatske (Slike 20. i 21.). U razdoblju od 2016. do

2021. godine, na mapama (Slike 22. do 27.) uočljiv je kontinuirani i isti uzorak proširenosti, iako pred kraj istraživanog razdoblja postaje sve rjeđi i zadržava se u samo pojedinim županijama kontinentalne Hrvatske. Ovakva proširenost može se objasniti činjenicom da je glavnina svih gospodarstva sa svinjama smještena u kontinentalnom dijelu Hrvatske (Slika 15.) te se virus bolesti Aujeszkoga mogao vrlo ograničeno proširiti na primorski i južni dio države. Ujedno, na gospodarstvima u primorskom i južnom dijelu Hrvatske tradicionalno se uzgajaju svinje u svrhu klanja na vlastitom gospodarstvu te gotovo da nema gospodarstava koja drže rasplodne svinje. Od ukupnog broja gospodarstva u ovih šest županija locirano je 2,46% gospodarstava s 1,09% krmača u odnosu na ukupan broj krmača na gospodarstvima u Republici Hrvatskoj. Prostornu proširenost bolesti Aujeszkoga kao mogući rizični čimbenik analizirali su brojni autori, ali lokacija gospodarstva uglavnom nije potvrđena kao rizični čimbenik. MARTINI i sur. (2003.) analizirali su gustoću gospodarstava i svinja unutar 6 km i udaljenost od najbližeg gospodarstva u smislu rizika za proširenost bolesti Aujeszkoga te su utvrdili povezanost malih gospodarstava u području niže gustoće kao statistički značajnu za povoljan ishod iskorjenjivanja. Ujedno su utvrdili i da pojedini čimbenici zajednički djeluju te da posljedično to može dovesti i do više prevalencije. ALLEPUZ i sur. (2009.) utvrdili su da prisutnost pozitivnih tovnih svinja ili pozitivnih krmača do udaljenosti od 1500 m od uzgoja gospodarstva s krmačama povećava rizik za infekciju iako ta varijabla nema učinak na povećanje rizika kada je gospodarstvo locirano na udaljenost do 1000 ili 2000 m. Nadalje su utvrdili da je prostorna proširenost bila vrlo slična opaženoj infekciji u uzgojima krmača u svim razdobljima iskorjenjivanja, što pokazuje da prostorni čimbenici možda nisu glavni čimbenici vezano za iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga te da bi drugi rizični čimbenici mogli biti mnogo snažnije povezani s rizikom za seropozitivnost uzgoja s krmačama. U ovom radu, gustoća gospodarstava sa svinjama također je analizirana kao mogući rizični čimbenik no povezanost s rizikom nije utvrđena. Naime najveća gustoća gospodarstava je u Krapinsko-zagorskoj županiji (2,19 gospodarstava po km^2) koja ima i najmanju prevalenciju (0,15%), a u ostalim županijama s velikom gustoćom, prevalencija je bila od 4,31 do 6,16% kao i u Međimurskoj županiji (5,54%) s 10 puta manjom gustoćom gospodarstava od Krapinsko-zagorske (0,47 gospodarstava po km^2). Ipak, prevalencija se značajno razlikovala između županija, najveća u Varaždinskoj županiji (12.14%), a najmanja u Krapinsko-zagorskoj (0,15%). Navedeno zahtijeva detaljniju analizu čimbenika koji su mogli utjecati na ovakvu razliku u prevalenciji u odnosu na razlike u načinu držanja svinja te veličini gospodarstava u te dvije županije. Naime, Krapinsko-zagorska županija

broji najviše gospodarstava i to s manjim brojem svinja i manjim brojem nesukladnih gospodarstava u odnosu na biosigurnost. Apsolutno najveći broj gospodarstava u Krapinsko-zagorskoj županiji je u kategoriji 2 i 3 (Tablica 15.) i ujedno ima najmanji udio gospodarstava u kategoriji 1 (Slika 34.). Najmanja prevalencija u Krapinsko-zagorskoj županiji može ukazivati na dobru biosigurnosnu praksu na gospodarstvima u Krapinsko-zagorskoj županiji, rjeđe držanje svinja na otvorenom te manji broj premještanja svinja.

Struktura populacije svinja, odnosno distribucija broja svinja po gospodarstvima također je čimbenik koji može utjecati na proširenost bolesti Aujeszkoga, međutim u ovom radu je struktura gospodarstava važnija iz aspekta strategije iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga. Strukturu hrvatskih gospodarstava uglavnom čine mala gospodarstava s do 10 svinja, čak 73,85% (Tablica 3.), od čega je najveći broj gospodarstva s niskom razinom biosigurnosti s lošijim uvjetima držanja svinja – kategorija 1 (SD 24,93, 14,56) (Tablice 5. i 6.).

U cilju procjene utjecaja istraživanih rizičnih čimbenika na pojavu i širenje bolesti Aujeszkoga i procjene povezanosti istih s pozitivnim gospodarstvima, analizirana je proširenost (prevalencija) bolesti Aujeszkoga u analiziranim gospodarstvima (N=30.687). Naime, prema definiranju uzročnosti (eng. causality) i Evansovim postulatima (EVANS, 1976.) pojava bolesti u populaciji rezultat je međusobnog djelovanja domaćina, uzročnika i okoliša tj. rizičnih čimbenika te bi postotak i broj novih slučajeva bolesti trebao biti veći u izloženoj populaciji u odnosu na populaciju koja nije bila izložena čimbeniku. Identificiranje čimbenika koji povećavaju rizik od bolesti ili onih koji smanjuju rizik od bolesti (zaštitni čimbenici) je važno kako bi se mogle provesti potencijalne mjere za smanjenje bolesti ili sprječavanje njenog ulaska (ROBERTSON, 2020.). Stoga je preduvjet za analizu bio izloženost gospodarstava istom čimbeniku i pojavnost infekcije virusom bolesti Aujeszkoga. Iz Tablice 10. usporedbom rezultata na ukupno testiranim gospodarstvima i onim obuhvaćenim analizom rizičnih čimbenika vidljivo je da su odnosi prevalencije isti, ali pri tumačenju treba isključiti Splitsko-dalmatinsku županiju kao županiju s visokom prevalencijom. Naime, tijekom istraživanog razdoblja na području predmetne županije pretraženo je samo 13 gospodarstava od kojih je samo jedno gospodarstvo u 2015. godini bilo pozitivno što daje prividno visoku prevalenciju od 7,69%.

Analiza je temeljena na pretpostavci da su uvjeti biosigurnosti prilikom prve pojave bolesti Aujeszkoga isti kao oni utvrđeni tijekom prve kategorizacije 2019. godine.

Analizirajući prevalenciju u odnosu na veličinu gospodarstva (Tablica 13.) i kategorije (Tablica 12.), utvrđena je značajno veća prevalencija u većim gospodarstvima (Tablica 13.) i unutar kategorije 3. Ovo se može objasniti činjenicom da se bolest Aujeszkoga lakše i brže širi u intenzivnim uzgojima zbog većeg broja premještanja svinja, ali u odnosu na kategoriju gospodarstva treba uzeti u obzir i moguće poboljšanje biosigurnosnih uvjeta nakon potvrđivanja bolesti Aujeszkoga budući je kategorizacija po prvi puta provedena tek 2019. godine. Ovakav rezultat može se tumačiti i na način da je u početku iskorjenjivanja utvrđena veća prevalencija u intenzivnim uzgojima svinja na kojima se drže krmače, koja se kasnije tijekom provedbe i trajanja iskorjenjivanja, smanjuje (ALLEPUZ i sur., 2009.).

Kada se pak gledaju podaci o broju pozitivnih gospodarstava po županijama i po kategorijama (Tablice 11. i 12.) razvidan je veliki broj pozitivnih gospodarstava u pojedinim županijama u kategorijama 0 i 4, te značajno veći broj pozitivnih gospodarstava u Varaždinskoj županiji u odnosu na ostale županije. To potvrđuju i razlike u prevalenciji u Varaždinskoj županiji (12,04%) u odnosu na ostale županije gdje se prevalencija kretala od 0,15% (Krapinsko-zagorska) do 7,46% (Sisačko-moslavačka), a što ukazuje da je u Varaždinskoj prevalencija od 1,61 do 80,27 puta veća u odnosu na ostale županije (Tablica 11.). U Varaždinskoj županiji je značajno veći broj pozitivnih gospodarstava u svim kategorijama, a poglavito u kategoriji 4 (Slika 38.) u odnosu na ostale županije. Moguće tumačenje za najveću prevalenciju u Varaždinskoj županiji može biti vezano na veličinu gospodarstava i broj takvih gospodarstava, ali s obzirom da je u drugim županijama s većim brojem takvih gospodarstva prevalencija manja (Prilog 8), pretpostavlja se da uz Varaždinskoj županiji djeluje dodatni rizični čimbenik ili rizični čimbenici koje je potrebno detaljno analizirati.

Kako bi se utvrdilo djelovanje pojedinačnih čimbenika, odgovori na pitanja iz Upitnika za kategorizaciju (Prilog 3) su u istraživanju analizirani kao pojedinačne varijable te je statističkom analizom utvrđena njihova značajnost.

U prvoj grupi pitanja kao značajne varijable nađene su vezano na način označavanja svinja i to tetoviranje svinja kao varijabla povezana s većom prevalencijom, kao i varijabla da svinje označava ovlaštena osoba. Budući da je potonja varijabla poželjna, ona teško može biti povezana s negativnim učinkom, pa se može pretpostaviti da je razlog za veću prevalenciju u tome što je prethodno utvrđeno da je prevalencija veća u skupini gospodarstava u kategoriji 3, na kojima se svinje pretežno označavaju od strane ovlaštene osobe. Isto tumačenje primjenjivo je i za

označavanje tetoviranjem, iako ta varijabla može biti izravno povezana sa širenjem virusa bolesti Aujeszkoga unutar gospodarstva, a ne može se isključiti i mogućnost širenje i na druga gospodarstva ukoliko se koristi isti alat za tetoviranje. Ova varijabla bi se trebala detaljnije analizirati u smislu dodatnih pitanja u upitniku, posebno vezano za korištenje pribora i alata u tetoviranju te mjera biosigurnosti vezano za čišćenje i dezinfekciju istoga, a također se ne može isključiti niti prisutnost konfaunding varijable koja je mogla utjecati na ovakav rezultat. Manje je vjerojatna mogućnost širenja infekcije alatom za tetoviranje s obzirom na relativno kratko trajanje viremije no treba uzeti u obzir vremensko razdoblje istraživanja zbog čega se ipak ne može isključiti mogućnost aktivnog širenja virusa unutar populacije tijekom 2013. godine, posebno na velikim gospodarstvima na kojima je ujedno i praksa tetoviranja svinja puno više zastupljena.

Varijabla vezana za pitanje „Na gospodarstvu ima neoznačenih svinja, a nema krmače“ ukazuje na mogući ilegalni promet svinja koji se zasigurno može smatrati rizičnim čimbenikom, a što je i potvrđeno u rezultatima (Tablica 16.).

U grupi pitanja o vođenju evidencija i registra svinja (Tablica 17.) svi čimbenici pokazali su se značajnima no budući da su određene varijable iz ove grupe pitanja poželjne, ovakav rezultat može se tumačiti također činjenicom da je vođenje evidencija i registra svinja urednije na većim gospodarstvima, a za koja je utvrđena veća prevalencija pa je stoga i rezultata analize takav.

U grupi pitanja koja se odnose na zdravlje i biosigurnost (Tablica 18.) kao značajni čimbenik pokazala se varijabla vezano za provođenje mjera propisanih godišnjom naredbom te zabilježena uginuća i dostupnost komercijalnih dokumenata. Budući da se ovakva praksa u stvari smatra poželjnom jer posjednici trebaju provoditi naređene mjere, prijavljivati uginuća i voditi evidenciju o otpremi uginulih životinja, također se ovakav rezultat može tumačiti u okviru veće prevalencije na većim gospodarstvima koja u načelu primjenjuju ovu praksu. Varijabla vezana za uginuća je najuočljivija no teško se može dovoditi u izravnu vezu s uginućima uslijed bolesti Aujeszkoga već dobrom farmskom praksom na gospodarstvima koja, ukoliko se ne primjenjuje, ugrožava zdravlje i dobrobit svinja te time utječe na veći broj uginulih svinja. Ujedno se može smatrati da je na takvim gospodarstvima biosigurnost općenito lošija.

Sljedeće grupe pitanja (Tablice 19. do 23.) odnose se na pojedine biosigurnosne mjere, od kojih se kao značajna varijabla izdvaja provođenje deratizacije i vođenje evidencije te dopremanje svinja na gospodarstvo. Prema dobivenim odgovorima varijable u odnosu na deratizaciju su povezane s pozitivnim gospodarstvima. Kako se radi o varijablama koje se smatraju pozitivnima (poželjnima)

u kontekstu biosigurnosti, za konačan zaključak trebalo bi dodatno analizirati pojedine skupine gospodarstava i analizirati odgovore unutar gospodarstava u odnosu na njihovu veličinu i kategoriju. Drugi mogući zaključak bio bi da provođenje deratizacije ne pomaže u sprječavanju infekcije (smanjenju prevalencije) ili da provedba nije bila učinkovita. Potvrdni odgovori na ova pitanja s gledišta biosigurnosti su prihvatljiva i poželjna pa je u pogledu vjerojatnosti teško objasniti povezanost izloženosti tim čimbenicima s pojavom infekcije. Budući se prema odgovorima iz upitnika ne može zaključiti o učinkovitosti provedbe ovih mjera, moguće je da iako su dani potvrdni, poželjni odgovori, sama provedba ovih mjera nije bila zadovoljavajuća. Za ove varijable potrebna je detaljnija analiza po kategorijama i veličini gospodarstava kako bi se ustanovili razlozi zbog čega gospodarstva koja provode ove mjere imaju veću vjerojatnost za infekciju.

Primjena ovih mjera smatra se poželjnim za sprječavanje unosa infekcije na gospodarstvo. Pokazalo se da se one značajno manje primjenjuju na pozitivnim gospodarstvima (OR manji od 1) ($P < 0,01$). Suprotno tome, provođenje umjetnog osjemenjivanja od strane posjednika i držanje vlastitog nerasta značajno povećava vjerojatnost infekcije virusom bolesti Aujeszkoga (Tablica 21.).

Kad se pak gleda način držanja svinja, značajna varijabla je držanje svinja na otvorenom (Tablica 22.). Otvoreno držanje kao rizični čimbenik povezan s kontaktom s divljim svinjama, nađeno je i u drugim radovima (CORN i sur., 2009., VICENTE-RUBIANO i sur., 2014., CARUSO i sur., 2018., CHARRIER i sur., 2018.,).

Grupa pitanja vezano za minimalne mjere biosigurnosti na gospodarstvima s više od 10 i više od 100 svinja nisu utvrđene značajne varijable (Tablice 24. i 25.), osim za varijable vezane za zaštitnu odjeću i zabranu izlaska u istoj odjeći i obući, međutim, rezultate treba oprezno tumačiti budući da sami odgovori na pitanja nužno ne znače i odgovarajuću primjenu zaštitne odjeće i obuće. Omjer DA/NE odgovora na pitanje o postojanju dezbarijere za osoblje (varijabla 6.33.) (Tablica 24.) na pozitivnim i negativnim gospodarstvima upućuju na povezanost dezbarijera s pozitivnim gospodarstvima (OR 1,34, CI 95% 0,16-1,56, $P <0,00$). Kako je postojanje dezbarijere na gospodarstvima zapravo poželjno te je ukoliko se pravilno primjenjuje, jedan od čimbenika koji sprječava unos infekcije, potrebno je detaljnije razmotriti ovu varijablu. Ukoliko se dezinfekcija u dezbarijeri ne primjenjuje na pravilan način, to može imati i suprotan učinak, što na kraju može objasniti i ovakav rezultat.

Varijable u odnosu na dobrobit nisu utvrđene kao značajne što se načelno niti ne očekuje (Tablica 26.).

Varijable iz grupe ostalih uvjeta vezano za hranidbu, stelju i zbrinjavanje gnoja (Tablice 27. do 29.) pokazale su se značajnima i to varijabla vezano za dopremu hrane od drugih proizvođača koja se povezuje s pozitivnim gospodarstvima i pokazuje veću vjerojatnost infekcije na gospodarstvima na kojima je ona prisutna te varijabla korištenja otpada iz prehrambene industrije u hranidbi svinja koja se povezuje s negativnim gospodarstvima, zatim varijabla proizvodnje stelje na vlastitom gospodarstvu koja povećava vjerojatnost infekcije za 1,88 (CI 95% 1,31-2,69) puta. Način skladištenja stelje također je povezano s pozitivnim gospodarstvima. Varijabla povezana sa zbrinjavanjem gnoja također se pokazala značajna i povezana s pozitivnim gospodarstvima dok je varijabla da se gnoj zbrinjava na tuđim poljoprivrednim površinama imala protektivni učinak. Nabava stelje od drugih proizvođača (varijabla 7.10.) ne smatra se vjerojatnim čimbenikom povezanim s pozitivnim gospodarstvima, dok čimbenik odgovarajuće skladištenje stelje (varijabla 7.11.) ukazuje da pozitivna gospodarstva ne skladište i ne zaštićuju stelju na odgovarajući način (OR < 1) (P<0,01). Drugim riječima, odgovarajuće skladištenje stelje je 0,42 puta manje na pozitivnim gospodarstvima u odnosu na negativna gospodarstva, što se može povezati s infekcijom na pozitivnim gospodarstvima. Rezultati analize ukazuju na to da županije s manjom prevalencijom mogu imati odnos pozitivnih i negativnih gospodarstava puno veći, dok velika prevalencija nužno ne znači i da je odnos pozitivnih i negativnih (odnosno bolesnih i zdravih) velik. To je primjer Varaždinske županije koja je imala 12 puta veću prevalenciju od Krapinsko-zagorske, a odnos pozitivnih i negativnih je bio 6,52 puta veći u odnosu na Krapinsko-zagorsku županiju. Također je razvidno da županije na istoku Hrvatske imaju znatno veći OR nego prevalenciju u odnosu na županije u zapadnoj i središnjoj Hrvatskoj. No unatoč značajno višoj prevalenciji u Varaždinskoj županiji u odnosu na Krapinsko-zagorsku županiju (80,93 puta), vjerojatnost da su svinje izložene nekom čimbeniku u toj županiji je 6,52 puta veća nego u Krapinsko-zagorskoj županiji, dok je ta vjerojatnost puno veća u drugim županijama kao što su Bjelovarsko-bilogorska, Vukovarsko-srijemska, Koprivničko-križevačka, Međimurska, i Osječko-baranjska koje nisu imale tako visoku prevalenciju. Te županije ujedno imaju i više gospodarstava u kategoriji 1, što može objasniti veću izloženost (Tablica 31.).

Stelja i gnoj kao okolišni rizični čimbenik ukoliko su kontaminirani virusom mogu biti značajni za širenje i unos infekcije (LI i sur. 2020.).

Analizom rizičnih čimbenika nađene su značajne varijable koje se ujedno i razlikuju unutar kategorija gospodarstava, a većina varijabli razlikuje se i po županijama (Tablica 30.). Navedeno je također potvrđeno i procjenom izloženosti riziku pojedinih područja/županija u odnosu na županiju s najmanjom prevalencijom (Krapinsko-zagorska, 0,15%). Prevalencija manja od 1% je obično dizajnirana prevalencija u programima koji imaju za cilj iskorjenjivanje bolesti, odnosno utvrđivanje područja slobodnih od bolesti (ANONIMUS, 2020.). Procjena izloženosti bila je od 6,52 (Varaždinska županija) do 44,13 (Osječko-baranjska) puta veća nego u Krapinsko-zagorskoj županiji (Tablica 31.), dok je procjena izloženosti ovisno o kategoriji značajno veća za kategoriju 4 u odnosu na kategoriju 0 (Tablica 32.).

Kako bi se detaljnije analizirali rizični čimbenici i njihovo djelovanje kroz vrijeme izrađen je primijenjeni matematički model koji se zasnivao na dinamici broja pozitivnih gospodarstava tijekom vremena i nazočnosti ispitivanog rizičnog čimbenika. Modelom je uspoređeno djelovanje čimbenika i pozitivnih gospodarstava koja su bila testirana više puta (u modelu nazvano posjeti). Broj pozitivnih gospodarstava u nekim županijama značajno se povećavao tijekom vremena, a što je posebno razvidno u Varaždinskoj, Sisačko-moslavačkoj, Bjelovarsko-bilogorskoj i Koprivničko-križevačkoj županiji (Slika 39.), što upućuje na to da je u tim županijama izražajnije djelovanje nekih čimbenika u odnosu na ostale.

Vjerojatnost infekcije tetoviranjem na pozitivnim gospodarstvima bila je 2,77 puta veća (OR = 2,77 (CI 95 % 1,47-5,23, P = 0,0016) u odnosu na negativna gospodarstva. Modelom se pokazalo da je mali broj seropozitivnih gospodarstava koje označavaju svinje tetoviranjem i da iako taj broj kontinuirano pada (Slike 40. do 42.), prosječan broj zaraženih svinja na gospodarstvu fluktuira (pada i raste), što može značiti da tetovrianje predstavlja čimbenik širenja bolesti Aujeszkoga unutar stada.

Za povezanost uginuća na pozitivnim gospodarstvima utvrđeno je da je na gospodarstvima na kojima se prijavljuju uginuća 1,73 (CI 95 % 1,33-2,25, P < 0.0001) puta veća vjerojatnost infekcije nego na negativnim gospodarstvima. Uspoređujući čimbenik na pozitivnim gospodarstvima tijekom vremena, veći je postotak seropozitivnih gospodarstava koje su imale uginuće u zadnja 3 mjeseca (Slike 45. do 47.), a prosječan broj seropozitivnih životinja po gospodarstava fluktuira (pada i raste) tijekom vremena. Na pozitivnim gospodarstvima bez uginuća ukupan broj zaraženih gospodarstava konstantno pada, kao i prosječni broj zaraženih svinja po gospodarstava. Iz navedenog je razvidno da uginuća na gospodarstvu ukazuju na povezanost bolesti Aujeszkoga s

pozitivnim gospodarstvima te bi se svakako podatak o uginućima trebao uzeti i kao marker potencijalne infekcije s bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima.

Prisutnost nerasta na gospodarstvima povećava vjerojatnost infekcije na pozitivnim gospodarstvima za 1,85 (CI 95% 1,60-2,14, P < 0.0001). Usporedbom pozitivnih gospodarstava koje imaju i nemaju neraste ustanovljeno je da se tijekom vremena povećava prosječni broj pozitivnih gospodarstava s nerastom. Prosjek zaraženih svinja po gospodarstvu s nerastom fluktuira tj. raste i pada tijekom vremena. Za gospodarstva bez nerasta ukupan broj zaraženih konstantno pada dok je broj zaraženih po gospodarstvu konstantan (osim 6. posjeta!) (Slike 48. do 50.). Iz navedenog je razvidno da prisutnost nerasta na gospodarstvu doprinosi pojavi bolesti Aujeszkoga i mogućnosti povećanja broja pozitivnih gospodarstava tijekom vremena i zbog toga se preporučuje učestalija kontrola takvih gospodarstava.

Držanje na otvorenom povećava vjerojatnost infekcije za 2,13 (CI 95% 1,29-3,51, P =0,0031), što znači da je vjerojatnost da je bolest Aujeszkoga na pozitivnim gospodarstvima zbog držanja na otvorenom, 2,13 puta veća nego kada se svinje drže u zatvorenom. (Tablica 22). Modelom je potvrđeno da postotak zaraženih naglo raste u skupini pozitivnih gospodarstava koje drže svinje na otvorenom dok je za drugu vrijednost varijable taj rast bio kontinuiran. Prosjek zaraženih po gospodarstvu ukazuje da u određenom vremenu postoji nagli porast broja inficiranih svinja, dok je kod pozitivnih gospodarstava koje imaju zatvoreni sustav držanja taj broj manje-više kontinuiran (Slike 51. - 53.). Ovakav rezultat ukazuje na značajnu povezanost bolesti Aujeszkoga i načina držanja svinja te se držanje svinja na otvorenom smatra indikativnim za pojavu i širenje bolesti Aujeszkoga.

Vjerojatnost infekcije bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima koji nabavljaju hranu od drugih proizvođača je 1,47 (CI 95 % 1,31-1,65, P <0,0001) puta veća u odnosu na gospodarstva koja ne nabavljaju hranu od drugih proizvođača. To je potvrđeno i modelom (Slike 54. do 56.) kojim je ustanovljeno da je postotak izloženih i neizloženih pozitivnih gospodarstava podjednak za prve 3 posjete nakon čega dolazi do osjetnog povećanja postotka zaraženih za gospodarstva koje koriste hranu drugih proizvođača tijekom vremena. No, prosjek zaraženih po gospodarstvu raste tijekom vremena za obje varijable. Kako postotak zaraženih po gospodarstvima raste, može se zaključiti da na gospodarstvima na kojima se ne rješava problem ovog čimbenika dolazi do daljnjeg širenja zaraze unutar gospodarstva kako raste redni broj posjeta.

Proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu pokazala se kao jedan od važnih čimbenika povezan s pozitivnim gospodarstvima. Vjerojatnost pojave bolesti Aujeszkoga na gospodarstvima koje same proizvode stelju je 1,88 (CI 95 % 1,31-2,69, P=0,0006) puta veća nego na gospodarstvima koja nemaju proizvodnju stelje. Modelom je potvrđeno da je nakon 2. posjeta kontinuirani rast postotka zaraženih po gospodarstvu za obje vrijednosti varijable (Slike 57. – 59.). Stoga je razvidno da proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu može dovesti do daljnjeg širenja zaraze unutar gospodarstva. Zaključuje se da je taj čimbenik indikativan za širenje bolesti Aujeszkoga unutar gospodarstva te je gospodarstva na kojima se proizvodi stelja uputno dodatno nadzirati.

Drugim riječima, nabava stelje od drugih proizvođača ne smatra se vjerojatnim čimbenikom povezanim s pozitivnim gospodarstvima. Odgovarajuće skladištenje stelje i zaštita od štetnika na gospodarstvima je biosigurnosni čimbenik koji djeluje protektivno na pojavu bolesti Aujeszkoga, tj. gospodarstva koje nemaju zaštitu od štetnika imaju za 2,37 (CI 95% 2,00-2,81) puta veću vjerojatnost pojavnosti bolesti Aujeszkoga (P <0 0,0001), dok na gospodarstvima koja skladište stelju na odgovarajući način i imaju zaštitu i od štetnika ta vjerojatnost je za 0,42 (CI 95 % 0,36-0,50, P<0,0001) puta manja. Modelom je također potvrđeno da se prosječni broj gospodarstava kao i prosječan broj zaraženih po gospodarstvu, tijekom sukcesivnih posjeta povećava kod onih gospodarstava koja nemaju odgovarajuće skladištenje stelje, što ukazuje da se povećani broj pozitivnih gospodarstava može očekivati u onih koja stelju ne zbrinjavaju na odgovarajući način i nemaju zaštitu od štetnika (Slike 60. – 62.).

U radu je izrađen i model koji je omogućio analizu dvije varijable i njihovu međusobnu interakciju. Temeljem rezultata razvidno je da pojedine varijable ukoliko djeluju simultano mogu dovesti do smanjenja ili pak povećanja infekcije na gospodarstvu. Tako se pokazalo da prirodni pripust povećava širenje infekcije, a provođenje deratizacije (Slika 63.) i redovitog čišćenja i dezinfekcije (Slike 66. i 67.) smanjuje mogućnost širenja infekcije između gospodarstava, iako drugi čimbenik koji je prisutan na gospodarstvu u isto vrijeme doprinosi pojavi infekcije. S druge strane ukoliko postoji zadovoljavajući čimbenik kao što je uredno ograđeno gospodarstvo s kontroliranim ulaskom osoba i vozila u objekt, a ako se ne provodi dezinfekcija, dolazi do širenja infekcije (Slika 67.). Nadalje, pokazalo se da hranidba hranom u kojoj se nalazi otpad od prehrambene industrije, smanjuje širenje bolesti Aujeszkoga (Slike 68. i 69.). Također su razvidna i odstupanja po kategorijama. Modelom su analizirane sve varijable te je za pojedine varijable utvrđen neočekivan rezultat u smislu da poželjno postupanje utječe na veću izloženost infekciji. Navedeno može značiti

da su pitanja u Upitniku za kategorizaciju (Prilog 3) koncipirana tako da odgovori mogu biti neodređeni i nespecifični, odnosno pristrani, što dovodi do ovakvog rezultata analize.

Zaključno se može reći da je modelom ustanovljen smanjeni broj zaraženih gospodarstava prilikom sukcesivnog testiranja, što ukazuje na učinkovitost mjera kontrole koje su se provodile na pozitivnim gospodarstvima. No, pokazalo se da je prevalencija različita u različitim područjima što ukazuje na potrebu definiranja programa nadziranja i iskorjenjivanja za pojedina područja (županije) prema prevalenciji. Gospodarstva koja su izložena navedenim čimbenicima trebala bi biti prva uzeta u obzir te je uputno je i daljnje provođenje sukcesivnog testiranja. Ujedno je uputno istovremeno provoditi i smanjenje pojavnosti rizičnih čimbenika, čime se također može utjecati na smanjuje prevalencije bolesti Aujeszkoga i na razini životinja, a time i na razini gospodarstava.

Budući je iskorjenjivanje boelsti Aujeszkoga predviđeno europskom legislativom (ANONIMUS, 2020.) na način da se obuhvati cjelokupna populacija domaćih svinja, rizični čimbenici nađeni u ovom radu mogu se koristiti prilikom planiranja nadziranja slobodnih gospodarstava (područja) bazirano na riziku. Ujedno bi trebalo revidirati Upitnik za kategorizaciju (Prilog 3) u skladu s analiziranim rizičnim čimbenicima na način da se pitanja prilagode tako da se pojedini rizični čimbenici dodatno ispitaju i da se onemogući davanje neodređenih i nespecifičnih odgovora kako bi se umanjila mogućnost utjecaja pristranosti.

7. ZAKLJUČCI

- Prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava po godinama istraživanog razdoblja kreće se u rasponu od 4,66 do 0,67%.

- Prevalencija bolesti Aujeszkoga se razlikuje po županijama od 0,15% do 12,14% i po kategorijama gospodarstava u odnosu na biosigurnost od 3,44% do 15,00%.

- Najveća prevalencija bolesti Aujeszkoga na razini gospodarstava utvrđena je u Varaždinskoj županiji (12,14%), a najmanja u Krapinsko-zagorskoj županiji (0,15%).

- Kao značajne varijable koje utječu na prevalenciju bolesti Aujeszkoga utvrđeni su čimbenici rizika: označavanje svinja tetoviranjem, uginuća u posljednja 3 mjeseca, prisustvo nerasta na gospodarstvu, držanje svinja na otvorenom, nabava hrane za životinje od drugih proizvođača i proizvodnja stelje na vlastitom gospodarstvu.

- Pojedina varijabla iako samostalno nije značajna uz prisutnost druge varijable može imati sinergistički učinak na smanjenje ili povećanje vjerojatnosti infekcije virusom bolesti Aujeszkoga.

- Broj pozitivnih gospodarstava se kod sukcesivnog testiranja smanjuje što ukazuje na učinkovitost mjera kontrole na zaraženim gospodarstvima.

- Kako bi iskorjenjivanje bolesti Aujeszkoga bilo brže i učinkovitije program se mora bazirati na prostorno određenim veličinama uzorka (po županijama i broju gospodarstava) pri CI 95% i zadanoj prevalenciji od 1% kako bi se brže identificirala preostala pozitivna gospodarstva.

- Dizajniranje programa nadziranja treba biti bazirano na riziku na način da se gospodarstva izložena rizičnim čimbenicima obuhvate testiranjem.

- Istovremeno s provedbom nadziranja bolesti Aujeszkoga potrebno je provoditi aktivnosti s ciljem uklanjanja ili smanjivanja utvrđenih rizičnih čimbenika na gospodarstvima.

- Upitnik za kategorizaciju trebalo bi prilagoditi s naglaskom na rizične čimbenike utvrđene ovim radom kako bi se onemogućilo davanje neodređenih i nespecifičnih odgovora čime bi se umanjio utjecaj pristranosti.

8. POPIS LITERATURE

AI, J., S. WENG, Q. CHENG, P. CUI, Y. LI, H. WU, Y. ZHU, B. XU, W. ZHANG (2018): Human Endophthalmitis Caused By Pseudorabies Virus Infection, China, 2017. Emerg. Infect. Dis. 24, 1087-1090.

ALLEPUZ, A., M. SAEZ, N. SOLYMOSI, S. NAPP, J. CASAL (2009): The role of spatial factors in the success of an Aujeszky's disease eradication programme in a high pig density area (Northeast Spain, 2003–2007). Prev. Vet. Med. 91, 153-160.

ANONIMUS (1964): Direktiva Vijeća od 26. lipnja 1964. o zdravstvenim problemima životinja koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice (64/432/EEZ).

ANONIMUS (1997): Direktiva Vijeća 97/12/EZ od 17. ožujka 1997. o izmjeni i ažuriranju Direktive 64/432/EEZ o zdravstvenim problemima koji utječu na trgovinu govedima i svinjama unutar Zajednice.

ANONIMUS (2008): Odluka Komisije od 21. veljače 2008. o dodatnim jamstvima u trgovini svinjama unutar Zajednice vezano uz bolest Aujeszkoga i kriterijima za dostavu informacija o bolesti (2008/185/EZ).

ANONIMUS (2009): Pravilnik o dodatnim jamstvima u trgovini svinjama u odnosu na bolest Aujeszkoga i kriterijima za prikupljanje informacija o bolesti (NN 69/09).

ANONIMUS (2012): Pravilnik o veterinarskim uvjetima za stavljanje u promet goveda i svinja (NN 71/12).

ANONIMUS (2012): Pravilnik o mjerama kontrole, suzbijanja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga (NN 95/12).

ANONIMUS (2016): Uredba (EU) 2016/429 Europskog Parlamenta i Vijeća od 9. ožujka 2016. o prenosivim bolestima životinja te o izmjeni i stavljanju izvan snage određenih akata u području zdravlja životinja (SL L 084 31.3.2016, p. 1).

ANONIMUS (2018): Provedbena uredba Komisije (EU) 2018/1882 od 3. prosinca 2018. o primjeni određenih pravila za sprečavanje i kontrolu bolesti na kategorije bolesti s popisa i o utvrđivanju popisa vrsta i skupina vrsta koje predstavljaju znatan rizik za širenje tih bolesti s popisa (SL L 308, 4.12.2018.).

ANONIMUS (2019): Naredba o mjerama za sprječavanje pojave i rano otkrivanje unosa virusa afričke svinjske kuge u Republici Hrvatskoj (NN 96/19, 99/19, 125/19).

ANONIMUS (2020): Bovine and swine diseases situation 2020. https://ec.europa.eu/food/system/files/2021-12/la_annual-situation_2020.pdf.

ANONIMUS (2020): Delegirana uredba Komisije (EU) 2020/689 od 17. prosinca 2019. o dopuni Uredbe (EU) 2016/429 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu pravila o nadziranju, programima iskorjenjivanja i statusu „slobodno od bolesti" za određene bolesti s popisa i emergentne bolesti (SL L 174, 3.6.2020.).

ANONIMUS (2021): Provedbena uredba Komisije (EU) 2021/620 od 15. travnja 2021. o utvrđivanju pravila za primjenu Uredbe (EU) 2016/429 Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu odobravanja statusa „slobodno od bolesti" i statusa područja na kojemu se ne provodi cijepljenje za određene države članice ili njihove zone ili kompartmente s obzirom na određene bolesti s popisa te u pogledu odobravanja programa iskorjenjivanja tih bolesti s popisa (SL L 131, 16. 4. 2021.).

ANONIMUS (2021): Naredba o mjerama za sprječavanje pojave i rano otkrivanje unosa virusa afričke svinjske kuge u Republici Hrvatskoj (NN 28/21).

AUJESZKY, A. (1902): Über eine neue Infektionskrankheit bei Haustieren. Zentralbl. Bakteriol. Orig. 32, 353-357.

AUSTIN, C. C., R. M. WEIGEL (1992): Factors affecting the geographic distribution of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus infection among swine herds in Illinois. Prev. Vet. Med. 13, 239-250.

BANKS, M. (1985): Detection of antibodies to Aujeszky's disease virus in whole blood by ELISA-disc. J. Virol. Methods 12, 41-45.

BARTHA, A. (1961): Experimental reduction of virulence of Aujeszky's disease virus. Magy. Allatorvosok. Lapja 16, 42-45.

BERAN, G. W. (1991): Transmission of Aujeszky's disease virus. Proceedings of the 1st International Symposium on the eradication of pseudorabies (Aujeszky's) virus. St Paul, Minnesota, str. 93-111.

BLAHA, T. (1989): Aujeszky's disease (pseudorabies). Applied Veterinary Epidemiology, Elsevier, Amsterdam, Nizozemska, 83-87.

CALBA, C., F. L. GOUTARD, L. HOINVILLE, P. HENDRIKX, A. LINDBERG, C. SAEGERMAN, M. PEYRE (2015): Surveillance systems evaluation: a systematic review of the existing approaches. BMC Public Health 15, 448.

CARUSO, C., N. VITALE, R. PRATO, M. RADAELLI, S. ZOPPI, R. POSSIDENTE, A. DONDO, L. CHIAVACCI, A. MORENO MARTIN, L. MASOERO (2018): Pseudorabies virus in North-West Italian wild boar (Sus scrofa) populations: prevalence and risk factors to support a territorial risk-based surveillance. Vet. Ital. 54, 337-341.

CASAL, J., J. MORESO, E. PLANAS (1997): Simulated airborne spread of Aujeszky's disease and foot-and-mouth disease. Vet. Rec. 140, 672-676.

CHARRIER, F., S. ROSSI, F. JORI, O. MAESTRINI, C. RICHOMME, F. CASABIANCA, C. DUCROT, J. JOUVE, N. PAVIO, M. LE POTIER (2018): Aujeszky's Disease and Hepatitis E Viruses Transmission between Domestic Pigs and Wild Boars in Corsica: Evaluating the Importance of Wild/Domestic Interactions and the Efficacy of Management Measures. Front. Vet. Sci. 5, 1.

CHRISTENSEN, J., I. A. GARDNER (2000): Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. Prev. Vet. Med. 45, 83-106.

CHRISTENSEN, L. S., J. MOUSING, S. MORTENSEN, K.J. SOERENSEN, S.B. Strandbygaard, C.A. Henriksen, J.B. Andersen (1990): Evidence of long distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus. Vet. Rec. 127, 471-474.

COLOMER, M.A., A. MARGALIDA, L. FRAILE (2020): Vaccination is a suitable tool in the control of aujeszky's disease outbreaks in pigs using a population dynamics P Systems Model. Animals 10, 909.

CORN, J. L., J. C. CUMBEE, R. BARFOOT, G. A. ERICKSON (2009): Pathogen exposure in feral swine populations geographically associated with high densities of transitional swine premises and commercial swine production. Wildl. Dis. 45, 713-721.

CVETNIĆ, S. (1997): Virusne bolesti životinja. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti i Školska knjiga, Zagreb, Hrvatska.

DAVIES, E. B., G. W. BERAN (1981): Influence of environmental factors upon the survival of Aujeszky's disease virus. Res. Vet. Sci. 31, 32–36.

DEMARCHI, J. M., Z. Q. LU, G. RALL, S. KUPERSHMIDT, T. BEN-PORAT (1990): Structural organization of the termini of the L and S components of the genome of pseudorabies virus. J. Med. Virol. 64, 4968-4977.

DONALDSON, A. I., R. C. WARDLEY, S. MARTIN, N. P. FERRIS (1983): Experimental Aujeszky's disease in pigs: excretion, survival and transmission of the virus. Vet. Rec. 113, 490-494.

DONG, B., D. S. ZARLENGA, X. REN (2014): An Overview of Live Attenuated Recombinant Pseudorabies Viruses for Use as Novel Vaccines. J. Immunol. Res., 824630.

EFSA PANEL ON ANIMAL HEALTH AND WELFARE (AHAW) (2017): Assessment of listing and categorisation of animal diseases within the framework of the Animal Health Law (Regulation (EU) No 2016/429): Aujeszky's disease. EFSA Journal 15, e04888.

ELFORD, W. J., I. A. GALLOWAY (1936): The size of the virus of Aujeszky's disease ("pseudo-rabies", "infectious bulbar paralysis", "mad itch") by ultrafiltration analysis. J. Hyg. 36, 536-539.

ENQUIST, L. W. (1999): Life beyond eradication: veterinary viruses in basic science. U: 100 Years of Virology. (Calisher, C.H., M.C. Horzinek, ur.). Arch. Virol. Suppl. 15, str. 87-109.

EVANS, A.S. (1976): Causation and disease: the Henle-Koch postulates revisited. Yale J. Biol. Med. 49, 175-195.

FAN, S., H. YUAN, L. LIU (2020): Pseudorabies virus encephalitis in humans: a case series study. J. Neurovirol. 26, 556-564.

FREULING, C. M., T. F. MÜLLER, T. C. METTENLEITER (2017): Vaccines against pseudorabies virus (PrV). Vet. Microbiol. 206, 3-9.

GATHERER, D., D. P. DEPLEDGE, C. A. HARTLEY, M. L. SZPARA, P. K. VAZ, M. BENKŐ, C. R. BRANDT, N. A. BRYANT, A. DASTJERDI, A. DOSZPOLY, U. A. GOMPELS, N. INOUE, K. W. JAROSINSKI, R. KAUL, V. LACOSTE, P. NORBERG, F. C. ORIGGI,

R. J. ORTON, P. E. PELLETT, D. S. SCHMID, S. J. SPATZ, J. P. STEWART, J. TRIMPERT, T. B. WALTZEK, A. J. DAVISON (2021): ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae, J. Gen. Virol. 102. 001673.

GILLESPIE, R. R., M. A. HILL (1996): Infection of pigs by aerosols of Aujeszky's disease virus and their shedding of the virus, Res. Vet. Sci. 60, 228-233.

GONG, L., Q. DENG, R. XU, C. JI, H. WANG, G. ZHANG (2020): Effects of physical and chemical factors on pseudorabies virus activity in vitro. BMC Vet. Res. 16, 358.

GRANT, R. H., A. B. SCHEIDT, L. R. RUEFF (1994): Aerosol transmission of a viable virus affecting swine: Explanation of an epizootic of pseudorabies. Int. J. Biometeorol. 38, 33-39.

GREINER, M., I. A. GARDNER (2000.): IA. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. Prev Vet Med. 45, 3-22.

HAHN, E. C., R. PAGE, P. S. HAHN, K. D. GILLIS, C. ROMERO, J. A. ANNELLI, E. P. J. GIBBS (1997): Mechanisms of transmission of Aujeszky’s disease virus originating from feral swine in the USA. Vet. Microbiol. 55, 123-130.

HAMPL, H., T. BEN-PORAT, L. EHRLICHER, K.O. HABERMEHL, A.S. KAPLAN (1984): Characterization of the envelope proteins of pseudorabies virus. J. Virol. Nov. 52, 583-590.

HANSON, R. P. (1954): The history of pseudorabies in the United States. J. Am. Vet. Assoc. 124, 259-261.

HARA, M., SHIMIZU, T., NEMOTO, S., FUKUYAMA, M., IKEDA, T., KIUCHI, A., TABUCHI, K., NOMURA, Y., SHIROTA, K., & UNE, Y. (1991): The genome type of Aujeszky's disease virus isolated from a cat in Japan. J. Vet. Sci. 53, 1087-1089.

HOSMER, D. W., S. LEMESHOW (2000): Applied logistic regression. Second edition. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, SAD.

HU, D., L. LV, Z. ZHANG, Y. XIAO, S. LIU (2016): Seroprevalence and associated risk factors of pseudorabies in Shandong province of China. J. Vet. Sci. 17, 361-368.

IGLESIAS, G., M. TRUJANO (1989): Studies on maternally derived antibodies to Aujeszky's disease virus in piglets born to naturally or experimentally infected sows. J. Vet. Med. B 36, 57-62.

KAPLAN, A. S., A. E. VATTER (1959): A comparison of herpes and pseudorabies viruses. Virology 7, 394-407.

KARGER, A., T. C. METTENLEITER (1996): Identification of cell surface molecules that interact with pseudorabies virus. J. Virol. 70, 2138-2145.

KEROS, T., D. BRNIĆ, J. PRPIĆ, D. DEŽĐEK, L. JEMERŠIĆ, B. ROIĆ, T. BEDEKOVIĆ (2014): Characterisation of pseudorabies virus in domestic pigs and wild boars in Croatia. Acta Vet. Hung. 62, 512-519.

KEROS, T., L. JEMERŠIĆ, D. BRNIĆ, J. PRPIĆ, D. DEŽĐEK (2015): Pseudorabies in hunting dogs in Croatia with phylogenetic analysis of detected strains. Vet. Rec. Case Rep. 3, e181.

KIT S., M. KIT (1991): Genetically engineered herpesvirus vaccines. Accomplishments in pigs and prospects in humans. Prog. Med. Virol. 38, 128-166.

KLUGE, J. P., C. JOHN MARÉ (1978): Natural and experimental in utero infection of piglets with Aujeszky's disease (pseudorabies virus). Proc. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnost. 21, 15-24.

KLUGE, J. P., G. W. BERAN, H. T. HILL (1999): Pseudorabies (Aujeszky ‘s disease). In Straw BE, D’Allaire S, WL Mengeling, et al., eds. Disease of Swine, 8th ed. Ames, IA:Iowa State University Press, pp. 233-246.

KÖHLER M., W. KÖHLER (2003): Zentrallblatt für Bacteriologie – 100 years ago Aladár Aujeszky detects a “new” disease – or: It was a cow and not the sow. Int. J. Med. Microbiol. 292, 423-427.

KOSHEMETOV, Z. K., Z. B. KONDIBAYEVA, A. M. MUSSOYEV, A. A. ABISHOV, U. Z. OMARBEKOVA (2021): Epizootic situation of Aujeszky's disease within the territory of the Republic of Kazakhstan. Open Vet. J. 11, 135-143.

KRITAS, S. K., H. J. NAUWYNCK, M. B. PENSAERT (1995): Dissemination of wild-type and gC-, gE- and gl-deleted mutants of Aujeszky’s disease virus in the maxillary nerve and trigeminal ganglion of pigs after intranasal inoculation. J. Gen. Virol. 76, 2063-2066.

KRITAS, S. K., H. J. NAUWYNCK, M. B. PENSAERT, S. C. KYRIAKIS (1999): Neural invasion of two virulent suis herpesvirus 1 strains in neonatal pigs with or without maternal immunity. Vet. Microbiol. 69, 143-156.

KRITAS, S. K., M. B. PENSAERT, T. C. METTENLEITER (1994): Invasion and spread of single glycoprotein deleted mutants of Aujeszky’s disease virus (ADV) in the trigeminal nervous pathway of pigs after intranasal inoculation. Vet. Microbiol. 40, 323-334.

KRETZSCHMAR, C. (1970): Die Aujeszkysche Krankheit. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, Njemačka.

LAVAL, K., L. W. ENQUIST (2020): The Neuropathic Itch Caused by Pseudorabies Virus. Pathogens 9, 254.

LEFKOWITZ, E. J., D. M. DEMPSEY, R. C. HENDRICKSON, R. J. ORTON, S. G. SIDDELL, D. B. SMITH (2018): Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Nucleic Acids Res. 46, 708-717.

LI, H. X., R. LIANG, Y. PANG, L. SHI, S. CUI, W. LIN (2020): Evidence for interspecies transmission route of pseudorabies virus via virally contaminated fomites. Vet. Microbiol. 251, 108912.

LIU, Y., Q. CHEN, X. RAO, X. DIAO, L. YANG, X. FANG, H. HOGEVEEN (2019): An economic assessment of pseudorabies (Aujeszky' disease) elimination on hog farms in China. Prev. Vet. Med. 163, 24-30.

LOPEZ-SORIA, S., J. MALDONADO, P. RIERA, M. NOFRARIAS, A. ESPINAL, O. VALERO, P. BLANCHARD, J. A. JESTIN CASAL, M. DOMINGO, C. ARTIGAS, J. SEGALES (2009): Selected swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. Transbound. Emerg. Dis. 57, 171-179.

MA W., LAGER K.M., RICHT J.A., STOFFREGEN W.C., ZHOU F., YOON K.J. (2008): Development of real-time polymerase chain reaction assays for rapid detection and differentiation of wild-type pseudorabies and gene-deleted vaccine viruses. J. Vet. Diagn. Invest. 20, 440-447.

MADOUASSE, A., M. MERCAT, A. VAN ROON, D. GRAHAM, M. GUELBENZU, I. SANTMAN BERENDS, G. VAN SCHAIK, M. NIELEN, J. FRÖSSLING, E. ÅGREN, R.W. HUMPHRY, J. EZE, G.J. GUNN, M.K. HENRY, J. GETHMANN, S.J. MORE, N. TOFT, C. FOURICHON (2022): A modelling framework for the prediction ofof the herd-level probability of infection from longitudinal data. Peer Community J. 2, e4.

MALTAR, LJ. (2014): Program nadziranja i iskorjenjivanja bolesti Aujeszkoga i uvjeti za slobodnu trgovinu svinja. 10. Savjetovanje uzgajivača svinja u Republici Hrvatskoj, Đurđevac, Hrvatska. Zbornik predavanja, 56-59.

MARCHIOLI, C., R. J. YANCEY, J. G. TIMMINS, L. E. POST, B. R. YOUNG, D. A. POVENDO (1988): Protection of mice and swine from pseudorabies virus-induced mortality by administration of pseudorabies virus-specific mouse monoclonal antibodies. Am. J. Vet. Res. 49, 860-864.

MAREK, J. (1904): Eine neue ansteckende Krankheit der Katzen. Z. Tiermed. 8, 389-391.

MARSH, W.E., T. DAMRONGWATANAPOKIN, K. LARNTZ, R.B. MORRISON (1991): The use of a geographic information system in an epidemiological study of pseudorabies (Aujeszky's disease) in Minnesota swine herds. Prev. Vet. Med. 11, 249-254.

MARTINI, M., M. DRIGO, M. DALLA POZZA, G. FERRARI, F. MARTINELLO, B. SONA (2003): A Study of the Progress of the Aujeszky's Disease Control Programme in Italy Using Survival Analysis. J. Vet. Med. B 50, 191-195.

MÁRTINEZ-LÓPEZ, B., T.E. CARPENTER, J.M. SANCHEZ-VIZCAINO (2009): Risk assessment and cost-effectiveness analysis of Aujeszky's disease virus introduction through breeding and fattening pig movements into Spain. Prev. Vet. Med. 90, 10-16.

MATTHEWS, R. E. F. (1979): Classification and nomenclature of viruses. Third report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Intervirology 12, 129-296.

MCINERNEY J., D. KOOIJ (1997): Economic analysis of alternative AD control programmes Vet. Microbiol. 55, 113-121.

MENGELING, W. L., P. S. PAUL, E. C. PIRTLE (1983): Restriction endonuclease analysis of the pseudorabies (Aujeszky's disease) virus before and after serial passage in vivo and in vitro. Arch. Virol. 78, 213-220.

MENGELING, W.L., K.M. LAGER, D.M. VOLZ, S.L. BROCKMEIER (1992): Effect of various vaccination procedures on shedding, latency and reactivation of attenuated and virulent pseudorabies virus in swine. Am. J. Vet. Res. 53, 2164-2173.

MENGELING, W.L. (1991): Anamnestic immune response of pigs to pseudorabies virus: latent virus reactivation versus direct oronasal and parenteral exposure to virus. J. Vet. Diagn. Invest. 3, 133-136.

METTENLEITER, T. C. (2000): Aujeszky's disease (pseudorabies) virus: the virus and molecular pathogenesis - State of the art, June 1999. Vet. Res. 31, 99-115.

METTENLEITER, T. C., B. EHLERS, T. MÜLLER (2012): Herpesviruses. U: Diseases of swine. 10th edition. (Zimmerman, J. J., L. A. Karriker, A. Ramírez, K. J. Schwartz, G. W. Stevenson). Wiley-Blackwell Publishing, John Wiley and Sons. Inc. Hoboken. New Jersey. SAD. str. 424-434.

METTENLEITER, T. C., B. EHLERS, T. MÜLLER, K. J. YOON, J. P. TEIFKE (2019): Herpesviruses. U: Diseases of swine. 11th edition (Zimmerman, J. J., L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, G. W. Stevenson, J. Zhang). Wiley-Blackwell. John Wiley and Sons. Inc. Hoboken. New Jersey. SAD. str. 548-575.

METTENLEITER, T. C., N. LUKACS, H. J. RZIHA (1985): Pseudorabies virus avirulent strains fail to express a major glycoprotein. J. Virol. 56, 307-311.

MIKOVIĆ, R., A. KNEŽEVIĆ, N. MILIĆ, D. KRNJAIĆ, M. RADOJIČIĆ, LJ. VELJOVIĆ, V. MILIĆEVIĆ, A. ZORIĆ, M. STANOJEVIĆ, J. NIŠAVIĆ (2016): Molecular detection of pseudorabies virus (PrV) porcine parvovirus (PPV) and porcine circovirus 2 (PCV2) in swine in Republic of Montenegro. Acta Vet. 66, 347-358.

MILLER, G. Y., J. S. TSAI, D. L. FORSTER (1996): Benefit-cost analysis of the national pseudorabies virus eradication program. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208, 208-213..

MOHER, D., A. LIBERATI, J. TETZLAFF, D. G. ALTMAN, PRISMA Group (2009): Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. Ann. Intern. Med. 151, 264-269.

MRAVAK, S., U. BIENZLE, H. FELDMEIER, H. HAMPL, K. O. HABERMEHL (1987): Pseudorabies in man. Lancet 1, 501-502.

MULDER, W., J. POL, E. GRUYS, L. JACOBS, M. DE JONG, B. PEETERS, T.G. KIMMAN (1997): Pseudorabies virus infections in pigs. Role of viral proteins in virulence, pathogenesis and transmission. Vet. Res. 28, 1-17.

MÜLLER, T. F., J. TEUFFERT, R. ZELLMER, F. J. CONRATHS (2001): Experimental infection of European wild boars and domestic pigs with pseudorabies viruses with differing virulence. Am. J. Vet. Res. 62, 252-258.

MÜLLER, T., H. J. BÄTZA, H. SCHLÜTER, F. J. CONRATHS, T. C. METTENLEITER (2003): Eradication of Aujeszky's disease in Germany. J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health 50, 207-213.

MÜLLER, T., J. TEUFFERT, C. STAUBACH, T. SELHORST, K. R. DEPNER (2005): Long-term studies on maternal immunity for Aujeszky's disease and classical swine fever in wild boar piglets. J. Vet. Med. B 52, 432-436.

NAUWYNCK, H., S. GLORIEUX, H. FAVOREEL, M. PENSAERT (2007): Cell biological and molecular characteristics of pseudorabies virus infections in cell cultures and in pigs with emphasis on the respiratory tract. Vet. Res. 38, 229-241.

WOAH (2018): WOAH Terrestrial Code. Chapter 3.1.2. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.02_AUJESZKYS.pdf.

WOAH (2021): WOAH Terrestrial Code. Infection with Aujeszky's disease virus. Chapter 8.2. https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmfile=chapitre_aujeszky.htm.

PENSAERT, M., R. B. MORRISON (2000): Challenges of the final stages of the ADV eradication program. Vet. Res. 31, 41-45.

PLATT, K. B. (1981): Genetic stability of the thermal, trypsin, rabbit and mouse markers of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus in the pig. Vet. Microbiol. 6, 225-232.

POL, F., M. F. LE POTIER (2011): Porcine Herpesvirus: Aujeszky's disease. Bull. Acad. Vet. Fr. 164, 323-326.

POMERANZ, L. E., A. E. REYNOLDS, C. J. HENGARTNER (2005): Molecular Biology of Pseudorabies Virus: Impact on Neurovirology and Veterinary Medicine. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 69, 462-500.

PUŠIĆ, I., B. ĐURIČIĆ, R. DOŠEN, J. PRODANOV, T. PETROVIĆ, V. BURSAĆ, M. UROŠEVIĆ (2009): Evaluation of the presence of specific antibodies against Morbus Aujeszky virus in unvaccinated swine in Vojvodina Province. Biotech. Anim. Husban. 25, 887–893.

QUINT, W., A. GIELKENS, J. VAN OIRSCHOT, A. BERNS, H. T. CUYPERS (1987): Construction and characterization of deletion mutants of pseudorabies virus: a new generation of „live" vaccines. J. Gen. Virol. 68, 523-534.

REAGAN, R. L., D. SCHENK, M. P. HARMON, A. L. BRUECKNER (1952): Morphological observations by electron microscopy of pseudorabies virus (Aujeszky strain) after propagation in the rabbit. Am. J. Vet. Res. 13, 577-578.

ROBERTSON, I. D. (2020): Disease Control, Prevention and On-Farm Biosecurity. The Role of Veterinary Epidemiology. Engineering 6, 20-25.

ROIĆ, B., L. JEMERŠIĆ, Z. KROVINA, S. TERZIĆ, A. JUNGIĆ, T. KEROS, J. PRPIĆ, D. BRNIĆ (2013): Nacionalni program nadziranja bolesti Aujeszkoga u domaćih svinja u R. Hrvatskoj tijekom 2011. godine. Vet. stn. 44, 19-26.

SABIN, A. B. (1934): The immunological relationships of pseudorabies (infectious bulbar paralysis, mad itch). Brit. J. Exp. Pathol. 15, 372-380.

SCHANG, L. M., G. F. KUTISH, F. A. OSORIO (1994): Correlation between precolonization of trigeminal ganglia by attenuated strains of pseudorabies virus and resistance to wild-type virus latency. J. Virol. 68, 8470-8476.

SCHMIEDHOFER (1910): Beitraege zur Pathologie der Infektioesen Bulbaerparalyse (Aujeszkyschen Krankheit). Zeitschr. Infekt. Krkh. Haustiere 8, 383-405.

SCHOENBAUM, M. A., J. J. ZIMMERMAN, G. W. BERAN, D. P. MURPHY (1990): Survival of pseudorabies virus in aerosol. Am. J. Vet. Res. 51, 331-333.

SCHULZ, J., C. STAUBACH, F. J. CONRATHS AND K. SCHULZ (2016): A simulation model to determine sensitivity and timeliness of surveillance strategies. Transbound. Emerg. Dis. 64, 1709-1719.

SHOPE, R. E. (1931): An experimental study of “mad itch” with especial reference to its relationship to pseudorabies. J. Exp. Med. 54, 233-248.

SIEGEL, A. M., M. RONALD, WEIGEL, C. ARNOLD (1993): Factors associated with time under quarantine for swine herds in the voluntary phase of the Illinois pseudorabies eradication program. Prev. Vet. Med. 16, 295-310.

SKINNER, G.R.B., A. AHMAD, J. A. DAVIES (2001): The infrequency of transmission of herpesviruses between humans and animals; postulation of an unrecognised protective host mechanism. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 24, 255-269.

SMID, B., L. VALICEK, L. RODAK (1994): Latent infection in a boar 6.5 years after experimental-infection with Aujeszky's disease virus. Acta Vet. Hung. 42, 317-318.

SOLYMOSI, N., J. REICZIGELA, O. BERKEB, A. HARNOSA, S. SZIGETID, L. FODORD, G. SZIGETID, K. BODIS (2004): Spatial risk assessment of herd sero status of Aujeszky's disease in a county in Hungary. Prev. Vet. Med. 65, 9-16.

SOZZI, E. (2014-2015): Detection and molecular analysis of Pseudorabies virus strains isolated in Italy. Disertacija. Universitá Degli Studi Di Milano, Facoltà di Medicina Veterinaria Dipartimento di Scienze veterinarie e Sanità pubblica. Milano, Italija.

SPICKLER, A.R. (2017): Aujeszky's Disease. Factsheet. http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/aujeszkys_disease.pdf.

STOIAN, A. M. M., V. PETROVAN, L. A. CONSTANCE, M. OLCHA, S. DEE, D. G. DIEL, M. A. SHEAHAN, R. R. R. ROWLAND, G. PATTERSON, M. C. NIEDERWERDER (2020): Stability of classical swine fever virus and pseudorabies virus in animal feed ingredients exposed to transpacific shipping conditions. Transbound. Emerg. Dis. 67, 1623-1632.

STREBEL, M. (1889): Eine eigenthümliche Juckkrankheit beim Rinde, Schweiz. Arch. Tierheilk. 31, 125-129.

TAMBA, M., R. CALABRESE, E. FINELLI, P. CORDIOLI (2002): Risk factors for Aujeszky's-disease seropositivity of swine herds of a region of northern Italy. Prev. Vet. Med. 54, 203-212.

TENHAGEN, B. A., W. BOLLWAHN, M. J. SEIDLER (1995): Vaccination trial against Aujeszky's disease: development of antibodies in sow serum, colostrum and the serum of suckling piglets and the influence of maternal antibodies on the serologic vaccination reaction of weaned piglets. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 102, 86-90.

TRAUB, E. (1933): Cultivation of pseudorabies virus. J. Exp. Med. 58, 663-681.

VAN DE WALLE, GERLINDE, FAVOREEL, HERMAN, PENSAERT, MAURICE (2003): Antibody-induced internalization of viral glycoproteins and gE-gI Fc receptor activity protect pseudorabies virus-infected monocytes from efficient complement-mediated lysis. J. Gen. Virol. 84, 939-948.

VAN NES, A. (2001): An Analysis of a Presumed Major Outbreak of Pseudorabies Virus in a Vaccinated Sow Herd. Epidemiol.Infect. 126, 119-128.

VAN OIRSCHOT, J. T., M. J. RZIHA, P. J. L. M. MOONEN, J. M. POL, D. VAN ZAANE (1986): Differentiation of serum antibodies from pigs vaccinated or infected with Aujeszky's disease virus by a competitive immunoassay. J. Gen.Virol. 67, 1179-1182.

VAN RIJN, P. A., G. J. WELLENBERG, R. HAKZE-VAN DER HONING, L. JACOBS, P. L. MOONEN, H. FEITSMA (2004): Detection of economically important viruses in boar semen by quantitative Real Time PCR technology. J. Virol. Methods 120, 151-160.

VAN ROON, M. MERCAT, G. VAN SCHAIK, M. NIELEN, D. A. GRAHAM, S. J. MORE, M. GUELBENZU-GONZALO, C. FOURICHON, A. MADOUASSE, AND I. M. G. A. SANTMAN-BERENDS (2020): Quantification of risk factors for bovine viral diarrhea virus in cattle herds: A systematic search and meta-analysis of observational studies. J. Dairy Sci. 103, 9446-9463.

VANNIER, P. (1989): The control programme of Aujeszky's disease in France: main results and difficulties. U: Vaccination and Control of Aujeszky's Disease. (Van Oirschot JT). Kluwer Academic Publishers, Boston, MA. str. 215-226.

VICENTE-RUBIANO, M., B. MARTINEZ-LOPEZ, F. SANCHEZ-VIZCAINO (2014): A new approach for rapidly assessing the risk of Aujeszky's Disease reintroduction into a disease-free Spanish territory by analysing the movement of live pigs and potential contacts with wild boar. Transbound Emerg Dis. 61, 350-361.

WARDEN, C., Q. TANG, H. ZHU (2011): Herpesvirus BACs: Past, Present, and Future. Biomed Res. Int., 124595.

WENJUN, M. A., K. M. LAGER, J. A. RICHT, W. C. STOFFREGEN, F. ZHOU, K.-J. YOON (2008): Development of real-time polymerase chain reaction assays for rapid detection and differentiation of wild-type pseudorabies and gene-deleted vaccine viruses. J. Vet. Diagn. Invest. 20, 440-447.

WHEELER, J.G., F. A. OSORIO (1991): Investigation of sites of pseudorabies virus latency, using polymerase chain reaction. Am. J. Vet. Res. 52, 1799-1803.

WITTMAN, G. (1991): Spread and control of aujeszky's disease (AD). Comp. lmmun. Microbiol. infect. Dis. 14, 165-173.

WITTMANN G. (1985): Aujeszky's disease: factors important for epizootiology and control. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 4, 5-20.

WITTMANN, G., H. J. RZIHA (1989): Aujeszky's disease (pseudorabies) in pigs. U: Herpesvirus Diseases of Cattle, Horses and Pigs. (Wittmann G.) Boston, MA. Kluwer Academic Publishers. str. 230-325.

WONG, G., L. JIAHAI, Z. WENHONG, G. FU GAO (2019): Pseudorabies virus: a neglected zoonotic pathogen in humans? Emerg. Microbes & Infect. 8, 150-154.

XIA, L., Q. SUN, J. WANG, Q. CHEN, P. LIU, P. C. SHEN, J. SUN, Y. TU, S. SHEN, J. ZHU, H. ZHAO, Q. WANG, B. LI, J. TAO, R.J. SOARES MAGALHAES, Y. YAN, C. CAI (2018): Epidemiology of pseudorabies in intensive pig farms in Shanghai, China: herd-level prevalence and risk factors. Prev. Vet. Med. 159, 51-56.

YOON, H. A., S. K. EO, A. G. ALEYAS, S. Y. CHA, J. H. LEE, J. S. CHAE, H. K. JANG, J. G. CHO, H. J. SONG (2006): Investigation of pseudorabies virus latency in nervous tissues of seropositive pigs exposed to field strain. J. Vet Med. Sci. 68, 143-148.

ZHAO, W., Y. WU, H. LI, S. LI, S. Y. FAN, H. L.WU, Y. J. LI, Y.L. LÜ, J. HAN, W. C. ZHANG, Y. ZHAO, G. L. LI, X. D. QIAO, H. T. REN, Y. C. ZHU, B. PENG, L.Y. CUI, H. Z. GUAN (2018): Clinical experience and next-generation sequencing analysis of encephalitis caused by pseudorabies virus. Natl. Med. J. Chin. 98, 1152-1157.

ZIMMERMAN, J. J., H. ARNE, G. W. BERAN (1989): The cost of eliminating pseudorabies from swine herds in Iowa. Prev. Vet. Med. 7, 187-199.

ZSOLT, C., D. TOMBÁCZ, Z. DEIM, M. SNYDER, Z. BOLDOGKŐI (2019): Analysis of the Complete Genome Sequence of a Novel, Pseudorabies Virus Strain Isolated in Southeast Europe. Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. 1806842.

ZWICK, W., H. ZELLER (1911): Untersuchungen uber die sogenannte Pseudowut. Arb. Kaiserl Gesundht 36, 382-408.

9. PRILOZI

Prilog 1 Obrazac BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“

Županija: Vukovarsko-srijemska

Evid. oznaka: 1934729

Općina: Tovarnik

Obrazac BA.SV

Vet. organizacija: VETERINARSKA STANICA

TESTIRANJE SVINJA NA BOLEST AUJESZKOGA

Farma: HR

Datum uzimanja uzoraka: _____

Svrha uzorkovanja: _____

Uzorak uzeo: _____

Na teret: _____

Vrsta uzorka: Pojedinačni uzorci krvi

Ukupan broj svinja na farmi _____.

Broj rasplodnih krmača _____.

Broj nazimica _____.

Broj nerastova _____.

Ukupan broj tovljenika u turnusu _____.

7.2.2022.

Stranica 1 *od* 1

Prilog 2 Završni obrazac BA.SV „Testiranje svinja na bolest Aujeszkoga“

Županija: Zagrebačka
Općina: Velika Gorica
Vet. organizacija: VETERINARSKA STANICA

46772

Evid. oznaka: **1927622**
Obrazac BA.SV

TESTIRANJE SVINJA NA BOLEST AUJESZKOGA

Datum uzimanja uzorka: 29.11.2021.
Svrha uzorkovanja: Status stada - Raspiod, 1 - 10 krmača
Uzorak uzeo:
Na teret: Proračun
Vrsta uzorka: Individualni uzorak krvi
Ukupan broj svinja: 9
Farma: HR

Evid. oznaka: **1927622**

Red. br.	Podaci o uzorcima	
	Ser. br. markice	Uzorak ID
1	000 01	527461
2	000 02	527462
3	000 09	527463

Red. br.	Podaci o uzorcima	
	Ser. br. markice	Uzorak ID

29.11.2021

Prilog 3 Upitnik za kategorizaciju

NASLOV			PITANJE	ODGOVOR	POZITIVNO	NEGATIVNO
A. PODACI O PREGLEDAVATELJU B. PODACI O POSJEDNIKU I GOSPODARSTVU			Podaci iz VETIs-a			
C. BROJNO STANJE ŽIVOTINJA NA GOSPODARSTVU		C.1.	Ukupan broj i kategorija svinja	Broj		
			Ostale životinje na gospodarstvu	DA/NE		
D. IDENTIFIKCIJA I REGISTRACIJA ŽIVOTINJA pitanja od 1.1. do 1.4. pitanja od 2.1. do 2.6. pitanja od 3.1. do 3.7. pitanje 4.1.	Brojno stanje	1.1.	Ukupan broj svinja na gospodarstvu u trenutku pregleda	Broj		
		1.2.	Ukupan broj svinja na gospodarstvu u trenutku pregleda upisanih u RSG	Broj		
		1.3.	Ukupan broj svinja tijekom prethodne godine	Broj		
		1.4.	Najveći broj svinja držanih u određenom razdoblju u prethodnih 12 mjeseci	Broj		
	Označavanje	2.1.	Ukupan broj životinja na gospodarstvu koje nisu označene	Broj		
		2.2.	Svinje se označavaju tetoviranjem	DA/NE		
		2.3.	Svinje se označavaju ušnim markicama	DA/NE		
		2.4.	Svinje označava ovlaštena osoba	DA/NE	DA	NE
	Sljedivost	X2.5.	Na gospodarstvu ima neoznačenih svinja, a posjednik nema, niti je imao krmače	DA/NE	NE	DA
		X2.6.	Na gospodarstvu ima označenih svinja bez popratne dokumentacije i podataka u RSG	DA/NE	NE	DA
	Evidencije	A3.1.	Vodi li se RSG	DA/NE	DA	NE
	Vođenje Registra svinja na gospodarstvu (RSG)	A3.2	Upisuju li se redovno podaci o svakoj promjeni broja svinja na gospodarstvu (u roku od 3 dana od nastale promjene)	DA/NE	DA	NE
		A3.3.	Jesu li upisani podaci o ponovnom označavanju na gospodarstvu i uginućima	DA/NE	DA	NE
	Putni listovi	A3.4.	Jesu li svi podaci sa Putnog lista u RSG upisani unutar 3 dana od premještanja	DA/NE	DA	NE
		A3.5.	Jesu li pravilno ispunjeni i ovjereni putni listovi (sa svim podacima)	DA/NE	DA	NE

	Jedinstveni registar svinja (JRS)	A3.6.	Jesu li putni listovi za dopremljene životinje dostavljeni ovlaštenoj veterinarskoj organizaciji (OVO) za upis u JRS	DA/NE	DA	NE
		A3.7.	Dostavljaju li se putni listovi u propisanom roku OVO	DA/NE	DA	NE
	Godišnja dojava brojnog stanja svinja na gospodarstvu od strane posjednika	4.1.	Je li posjednik izvršio obveznu godišnju dojavu brojnog stanja svinja na gospodarstvu za prethodnu godinu	DA/NE	DA	NE
E. ZDRAVLJE ŽIVOTINJA I BIOSIGURNOST pitanja od 5.1. do 5.6.	Zdravlje životinja	B5.1.	Prijavljuje li posjednik životinje veterinaru svaku sumnju, znakove bolesti i uginuće	DA/NE	DA	NE
		B5.2.	Na gospodarstvu je bilo utvrđene sumnje/potvrđene bolesti u posljednja 3 mjeseca	DA/NE		
		B5.3.	Provode li se mjere propisane godišnjom naredbom	DA/NE	DA	NE
		B5.4.	Je li bilo pobačaja u posljednja 3 mjeseca	DA/NE		
		B5.4.a	Jesu li pobačaji prijavljeni	DA/NE	DA	NE
			Jesu li uzeti uzorci u svrhu utvrđivanja uzroka pobačaja	DA/NE		
		B.5.5.	Je li bilo uginuća u posljednja 3 mjeseca	DA/NE		
		B.5.5.a	Jesu li uginuća prijavljena	DA/NE	DA	NE
			Je li provedeno isključivanje bolesti u laboratoriju	DA/NE		
		B5.6.	Komercijalni dokumenti o otpremi lešina su dostupni	DA/NE	DA	NE
BIOSIGURNOST pitanja od 6.1. do 6.22.	Deratizacija i zaštita od štetnika	C6.1.	Provodi li se zaštita od ulaska glodavaca, ptica i ostalih životinja u objekte sa svinjama	DA/NE	DA	NE
		C6.2.	Provodi li se deratizacija	DA/NE	DA	NE
		6.3.	Postoji li na gospodarstvu evidencija o provedbi deratizacije	DA/NE	DA	NE
		6.4.	Postoji li u blizini gospodarstva odlagalište smeća	DA/NE	NE	DA
	Doprema svinja na gospodarstvo	6.5.	Svinje su dopremane na gospodarstvo u posljednja 3 mjeseca	DA/NE		
			Jesu li svinje otpremane s gospodarstva unutar 30 dana od posljednje dopreme svinja	DA/NE		

	D6.6.	Krmače i nazimice pripuštaju se prirodnim putem	DA/NE		
	D6.7.	Na gospodarstvu je u trenutku kategorizacije prisutan nerast	DA/NE	DA	NE
Reprodukcija	6.8.	Krmače i nazimice umjetno se osjemenjuju	DA/NE		
	6.9.	Umjetno osjemenjivanje provodi ovlaštena osoba	DA/NE	DA	NE
	6.10.	Umjetno osjemenjivanje provodi posjednik	DA/NE	NE	DA
	6.11.	O pripustu i/ili umjetnom osjemenjivanju vodi se evidencija	DA/NE	DA	NE
Prijevoz svinja	6.12.	Za prijevoz svinja koristi se isključivo vlastito vozilo	DA/NE		
	6.13.	Za prijevoz svinja koriste se vozila drugih posjednika/prijevoznika	DA/NE		
	6.14.	Ukupan broj objekata na gospodarstvu u kojima se drže svinje	Broj		
	6.15.	Drže li se svinje trajno u zatvorenim objektima bez vanjskih ispusta	DA/NE		
	E6.16.	Ukoliko postoje vanjski ispusti za svinje, jesu li ograđeni	DA/NE	DA	NE
Način držanja	O6.17.	Svinje se drže na otvorenom	DA/NE		
	X6.18.	Ukoliko da, posjeduje li gospodarstvo odobrenje za držanje svinja na otvorenom od strane veterinarske inspekcije?	DA/NE	DA	NE
	O6.19.	Je li ograda održavana	DA/NE	DA	NE
	O6.20.	Je li vanjska ograda pod naponom u trenutku kategorizacije	DA/NE	DA	NE
	O6.21.	Ima li tragova da svinje borave izvan ograde	DA/NE	NE	DA
	O6.22.	Jesu li sve svinje koje se drže na otvorenom označene	DA/NE	DA	NE
Osnovne biosigurnosne mjere	F6.23.	Gospodarstvo je ograđeno i ulaz je kontroliran	DA/NE	DA	NE
	F6.24.	U uzgoje se uvode samo svinje iz registriranih uzgoja s propisanom dokumentacijom	DA/NE	DA	NE
	F6.25.	Novouvedene svinje drže se odvojeno od ostalih svinja najmanje kroz 14 dana	DA/NE	DA	NE
	F6.26.	Provodi li se redovito čišćenje i dezinfekcija objekata (u skladu s tehnološkim zahtjevima)	DA/NE	DA	NE

		F6.27.	Vozila kojima se prevoze svinje su nakon svakog istovara očišćena, oprana i dezinficirana	DA/NE	DA	NE
		F6.28.	Ulaz u objekt sa svinjama je kontroliran i ulaz je dozvoljen samo radnicima/članovima domaćinstva i osobama s dozvolom	DA/NE	DA	NE
		F.6.29.	Provodi se dezinfekcija obuće prilikom ulaska i izlaska iz objekata sa svinjama	DA/NE	DA	NE
BIOSIGURNOST pitanja od 6.30. do 6.33.	Dodatne biosigurnosne mjere na gospodarstvima s 11-100 svinja	F6.30.	Radnicima i posjetiteljima je osigurana zaštitna odjeća i obuća	DA/NE	DA	NE
		F6.31.	Zabranjen je izlaz s gospodarstva u istoj odjeći i obući	DA/NE	DA	NE
		F6.32.	Na ulazu na gosp. postoji dezbarijera za vozila	DA/NE	DA	NE
		F6.33.	Na ulazu na gosp. postoji dezbarijera za osoblje	DA/NE	DA	NE
BIOSIGURNOST pitanja od 6.34. do 6.50.	Dodatne biosigurnosne mjere na gospodarstvima s više od 100 svinja	F6.34.	Određena je osoba za održavanje dezbarijera	DA/NE	DA	NE
		F6.35.	O održavanju dezbarijera vodi se evidencija	DA/NE	DA	NE
		F6.36.	Dezinfekcija ruku i obuće provodi se pri ulazu na gosp.	DA/NE	DA	NE
		F6.37.	Osiguran je garderobni prostor i sanitarni čvor s kupaonicom po potrebi	DA/NE	DA	NE
		F6.38.	Radnici se obvezno presvlače u zaštitnu odjeću	DA/NE	DA	NE
		F6.39.	Osigurano je pranje zaštitne odjeće ili jednokratna odjeća i obuća	DA/NE	DA	NE
		F6.40.	Vozila mogu ući na gosp. samo prolaskom kroz dezbarijeru i uz odobrenje odgovorne osobe	DA/NE	DA	NE
		F6.41.	Posjetitelji mogu ući na gops. samo uz odobrenje i uz korištenje zaštitne odjeće i obuće o čemu se vodi evidencija	DA/NE	DA	NE
		F6.42.	Vodi se evidencija o vozilima koji ulaze na gosp.	DA/NE	DA	NE
		F.6.43.	Zabranjeno je držanje drugih vrsta životinja u objektu gdje se drže svinje	DA/NE	DA	NE
		F6.44.	Unošenje i iznošenje pribora, oruđa i opreme za rad je kontrolirano	DA/NE	DA	NE

		F6.45.	Prehrana zaposlenika je organizirana u krugu gosp.	DA/NE	DA	NE
		F6.46.	Zaposlenicima je zabranjeno unositi hranu (od mesa ili proizvoda od mesa svinja) na gosp.	DA/NE	DA	NE
		F6.47.	Zaposlenicima je zabranjeno držati svinje u vlastitom domaćinstvu	DA/NE	DA	NE
		F6.48.	Zaposlenicima je zabranjeno raditi u drugim objektima sa svinjama, izvan gosp.	DA/NE	DA	NE
		F6.49.	Zaposlenicima je zabranjeno sudjelovati u lovu i/ili rukovanju s divljim svinjama	DA/NE	DA	NE
		F6.50.	Zaposlenici su obvezni izvijestiti odgovornu osobu, o svakom rizičnom kontaktu (sa sumnjivim ili bolesnim domaćim i/ili divljim svinjama	DA/NE	DA	NE
F. OSTALI UVJETI pitanja od 7.1. do 7.15.	Ostali uvjeti - dobrobit, liječenje	7.1.	Za bolesne, ozlijeđene ili iscrpljene životinje osiguran je odvojeni prostor	DA/NE	DA	NE
		7.2.	Vodi li se evidencija o liječenju životinja	DA/NE	DA	NE
		7.3.	Svinje se drže na primjeren način, osigurano je redovito čišćenje izmeta	DA/NE	DA	NE
		7.4.	Svinjama je osiguran stalni pristup vodi te primjerena vrsta i količina hrane obzirom na njihovu kategoriju/ dob i vrstu	DA/NE	DA	NE
	Hrana i stelja za životinje	7.5.	Posjednik proizvodi vlastitu hranu za hranidbu svinja	DA/NE		
		7.6.	Posjednik nabavlja hranu za hranidbu svinja od drugih proizvođača	DA/NE		
		7.7.	Svinjama se u hranidbi daje otpad prehrambene industrije (pekarski proizvodi, mliječni proizvodi)	DA/NE		
		X.	Svinjama se daje napoj koji sadrži ostatke životinjskog podrijetla	DA/NE	NE	DA
		G7.8.	Hrana se skladišti na odgovarajući način i zaštićena je od štetnika	DA/NE	DA	NE
		7.9.	Stelja za svinje proizvodi se na vlastitom gospodarstvu	DA/NE		
		7.10.	Stelja za svinje nabavlja se od drugih proizvođača	DA/NE		

	7.11.	Stelja za svinje skladišti se na odgovarajući način i zaštićena je od štetnika	DA/NE	DA	NE
	7.12.	Za nabavljenu hranu i stelju od drugih proizvođača dostupna je evidencija	DA/NE	DA	NE
	H7.13.	Zbrinjava li se gnoj na odgovarajući način (uređeno vanjsko gnojište, jama gnojnica,laguna)	DA/NE	DA	NE
Stajski gnoj	7.14.	Otprema li se stajski gnoj na vlastite poljoprivredne površine	DA/NE	DA	NE
	7.15.	Postoji li evidencija o otpremi stajskog gnoja na tuđe poljoprivredne površine	DA/NE	DA	NE

Prilog 4 Pregled svih rezultata testiranja na bolest Aujeszkoga u razdoblju 2013. – 2021. godine

Županije	2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		2021		Ukupno	
	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)	Gosp. (poz.)	Uzorci (poz.)
Bjelovarsko-bilogorska	1 (0)	10 (0)	3150 (202)	15026 (441)	1040 (31)	4169 (82)	350 (11)	1463 (18)	336 (4)	1603 (5)	143 (1)	541 (1)	189 (1)	708 (1)	156 (0)	488 (0)	63 (0)	404 (0)	5428 (250)	24412 (548)
Brodsko-posavska	0	0	2 (0)	78 (0)	2699 (62)	15692 (114)	261 (6)	1302 (14)	127 (2)	718 (2)	73 (0)	245 (0)	13 (0)	35 (0)	134 (3)	809 (13)	65 (1)	236 (2)	3375 (74)	19115 (145)
Dubrovačko-neretvanska	0	0	0	0	2 (0)	34 (0)	2 (0)	21 (0)	1 (0)	6 (0)	0	0	0	0	0	0	0	0	5 (0)	61 (0)
Grad Zagreb	0	0	266 (1)	1206 (4)	97 (0)	252 (0)	22 (0)	123 (0)	20 (0)	128 (0)	24 (0)	96 (0)	29 (2)	163 (2)	4 (0)	27 (0)	0	0	462 (3)	1995 (6)
Istarska	0	0	41 (2)	129 (9)	27 (0)	165 (0)	14 (1)	63 (1)	11 (0)	64 (0)	0	0	9 (0)	27 (0)	2 (0)	2 (0)	1 (0)	2 (0)	105 (3)	452 (10)
Karlovačka	0	0	0	0	642 (0)	3046 (0)	295 (0)	1082 (0)	228 (1)	633 (1)	55 (0)	185 (0)	106 (0)	241 (0)	106 (0)	245 (0)	53 (2)	156 (7)	1485 (3)	5588 (8)
Koprivničko-križevačka	500 (20)	1620 (39)	3318 (138)	16550 (277)	414 (12)	1365 (16)	131 (2)	604 (2)	297 (2)	1533 (3)	147 (0)	597 (0)	189 (5)	713 (6)	87 (0)	384 (0)	31 (0)	247 (0)	5114 (179)	23613 (343)
Krapinsko-zagorska	194 (0)	435 (0)	2433 (4)	9574 (4)	383 (0)	975 (0)	343 (0)	1103 (0)	240 (1)	790 (2)	246 (0)	555 (0)	163 (1)	417 (1)	76 (0)	246 (0)	83 (0)	360 (0)	4161 (6)	14455 (7)
Ličko-senjska	0	0	0	0	5 (0)	68 (0)	5 (0)	27 (0)	0	0	1 (0)	3 (0)	0	0	2 (0)	2 (0)	1 (0)	1 (0)	14 (0)	101 (0)
Međimurska	139 (7)	362 (7)	371 (19)	1674 (24)	23 (0)	341 (0)	23 (0)	183 (0)	41 (0)	208 (0)	0	0	0	0	0	0	0	0	597 (26)	2768 (31)
Osječko-baranjska	76 (9)	438 (11)	4792 (293)	23164 (534)	877 (23)	9863 (32)	265 (2)	1615 (2)	258 (3)	1829 (6)	63 (1)	252 (1)	101 (3)	536 (29)	191 (2)	1767 (422)	75 (0)	595 (0)	6698 (397)	40059 (1037)

Požeško-slavonska	0	0	1550 (21)	5768 (29)	275 (2)	774 (2)	159 (2)	639 (2)	109 (1)	415 (1)	9 (1)	60 (7)	8 (1)	26 (1)	38 (0)	147 (0)	26 (0)	45 (0)	2174 (28)	7874 (42)
Primorsko-goranska	0	0	0	0	3 (0)	13 (0)	1 (0)	6 (0)	2 (0)	12 (0)	3 (0)	31 (0)	2 (0)	19 (0)	1 (0)	5 (0)	1 (0)	1 (0)	13 (0)	87 (0)
Sisačko-moslavačka	0	0	0	0	2372 (102)	10988 (170)	544 (17)	1876 (38)	390 (11)	1414 (33)	158 (4)	561 (14)	123 (1)	355 (3)	103 (2)	312 (8)	45 (1)	161 (1)	3735 (138)	15667 (267)
Splitsko-dalmatinska	0	0	0	0	6 (1)	50 (10)	2 (0)	31 (0)	1 (0)	4 (0)	2 (0)	10 (0)	0	0	1 (0)	32 (0)	1 (0)	33 (0)	13 (1)	160 (10)
Šibensko-kninska	0	0	0	0	6 (0)	56 (0)	5 (0)	33 (0)	0	0	0	0	1 (0)	19 (0)	0	0	1 (0)	17 (0)	13 (0)	125 (0)
Varaždinska	2 (0)	10 (0)	1712 (214)	7732 (360)	273 (22)	1230 (48)	167 (11)	578 (16)	142 (6)	657 (14)	45 (5)	139 (11)	61 (0)	206 (0)	100 (0)	540 (0)	8 (0)	25 (0)	2510 (258)	11117 (449)
Virovitičko-podravska	122 (2)	199 (4)	1558 (49)	4600 (59)	356 (3)	1556 (4)	266 (0)	1116 (0)	466 (0)	1251 (0)	236 (0)	421 (0)	139 (1)	272 (1)	88 (1)	167 (1)	52 (0)	204 (0)	3283 (56)	9786 (69)
Vukovarsko-srijemska	0	0	0	0	3436 (160)	17204 (406)	632 (12)	2759 (43)	273 (5)	1257 (31)	39 (2)	216 (43)	113 (2)	554 (105)	172 (1)	1137 (4)	38 (1)	267 (1)	4703 (183)	23394 (633)
Zadarska	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (0)	4 (0)	0	0	1 (0)	4 (0)
Zagrebačka	0	0	2722 (78)	13091 (160)	820 (10)	3190 (20)	155 (7)	735 (12)	158 (4)	854 (7)	72 (4)	314 (9)	159 (1)	455 (1)	89 (0)	254 (0)	41 (1)	248 (1)	4216 (105)	19141 (210)
Ukupno	1034 (38)	3074 (61)	21915 (1021)	98592 (1901)	13756 (428)	71031 (904)	3642 (71)	15359 (148)	3100 (40)	13376 (105)	1316 (18)	4226 (86)	1405 (18)	4746 (150)	1351 (9)	6568 (448)	585 (6)	3002 (12)	48105 (1710)	219974 (3815)

Prilog 5 Broj svinja na gospodarstvima i gustoća gospodarstava po županijama

		Gospodarstva			Svinje					
Županija	Površina županije* Km^2	N	Gustoća N/km^2	Prevalencija %	N	Mean	Min.	Maks.	SD	Gustoća N/km^2
Bjelovarko-bilogorska	2640	3092	1,17	5,76	64460	20,85	1	4756	98,39	24,42
Brodsko -posavska	2030	2495	1,23	2,28	75632	30,31	1	12000	261,4	37,26
Grad Zagreb	641	273	0,43	1,1	5330	19,52	1	406	33,68	8,32
Istarska	2813	47	0,02	4,26	990	21,06	1	117	24,27	0,35
Karlovačka	3626	828	0,23	0,24	9933	12	1	494	24,42	2,74
Koprivničko-križevačka	1748	3028	1,73	4,36	63388	20,93	1	7293	150,9	36,26
Krapinsko-zagorska	1229	2692	2,19	0,15	20295	7,54	1	1101	23,36	16,51
Međimurska	729	343	0,47	5,54	17833	51,99	1	8690	474,5	24,46
Osječko-baranjska	4155	4479	1,08	6,16	298427	66,63	1	29148	735,5	71,82
Požeško-slavonska	1823	1298	0,71	1,54	25199	19,41	1	2002	65,36	13,82
Sisaćko-moslavačka	4468	2492	0,56	7,46	35516	14,25	1	2640	54,98	7,95
Varaždinska	1262	1647	1,31	12,14	33207	20,16	1	3866	132,6	26,31
Virovitičko-podravska	2024	1860	0,92	2,42	25749	13,84	1	790	32,38	12,72
Vukovarsko-srijemska	2454	3340	1,36	4,31	153903	46,08	1	31159	662	62,72
Zagrebačka	3060	2773	0,91	2,6	71205	25,68	1	27306	525,6	23,27
Ukupno	55594	30687	0,88	4,09	901067	29,36	1	31159	405,9	25,97

Podaci Državne geodetske uprave (izračunani iz grafičke baze podataka službene evidencije prostornih jedinica), stanje 31. ožujka 2011., odnose se na površinu kopna, dostupno na https://www.dzs.hr/hrv/censuses/census2011/results/htm/h02_02/h02_02.html.DZS, Popis 2011

Prilog 6 Broj svinja prema uzgojnim kategorijama po županijama

Županija	Broj gosp.	Broj svinja ukupno	Krmače			Nazimice			Nerasti			Tovljenici			Prasad			Odojci		
			N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
Bjelovarko-bilogorska	3092	64460	9144	2,96	7,45	1648	0,53	2,07	373	0,12	0,4	21755	7,04	87,61	16585	5,36	0,27	14955	4,84	18,15
Brodsko -posavska	2495	75632	6002	2,41	0,04	1127	0,45	1,88	399	0,16	0,5	47479	19,03	260,7	11803	4,73	10,04	8822	3,54	15,1
Grad Zagreb	273	5330	561	2,05	2,8	97	0,35	1,1	39	0,14	0,4	2372	8,69	27,45	1277	4,68	9,96	984	3,6	8,24
Istarska	47	990	95	2,02	3,76	33	0,7	1,78	14	0,3	0,6	544	11,57	15,64	179	3,81	1,1	125	2,66	6,11
Karlovačka	828	9933	1646	1,99	5,99	333	0,4	1,21	120	0,14	0,5	3127	3,78	4,09	2839	3,43	11,1	1868	2,56	7,8
Koprivničko-križevačka	3028	63388	9688	3,2	17,02	1895	0,63	5,11	327	0,11	0,5	20292	6,7	56,71	18894	6,24	45,09	12292	4,06	30,92
Krapinsko-zagorska	2692	20295	2405	0,89	2,98	982	0,36	1,45	107	0,04	0,3	10124	3,76	10,7	3906	1,46	6,02	2771	1,03	5,27
Međimurska	343	17833	1597	4,33	38,25	1211	3,53	56	34	0,1	0,9	3652	10,65	42,58	7195	20,98	241,9	4144	12,06	137
Osječko-baranjska	4479	298427	25968	5,8	69,31	6129	1,38	24	908	0,2	1,5	135129	30,17	393,7	64002	14,29	192,3	66291	14,8	264,6
Požeško-slavonska	1298	25199	2713	2,09	7,18	491	0,38	1,97	222	0,17	0,5	9346	7,2	19,13	7518	5,79	30	4909	3,78	12,9
Sisaćko-moslavačka	2492	35516	5480	2,2	9,92	1322	0,53	4,32	505	0,2	0,7	11194	4,49	5,33	10158	4,08	26,58	6857	2,75	15,07
Varaždinska	1647	33207	4802	2,92	22,19	992	0,6	7,68	84	0,05	0,5	9886	6	45,56	10682	6,49	59,72	6761	4,11	35,46
Virovitičko-podravska	1860	25749	3193	1,72	4,96	721	0,37	1,8	285	0,18	0,7	9221	4,96	16,79	6973	3,75	11,49	5356	2,88	8,19
Vukovarsko-srijemska	3340	153903	13794	4,13	52,42	2436	0,73	10,4	645	0,19	0,8	73207	21,91	400,8	37380	11,19	191,9	26441	7,92	116,6
Zagrebačka	2773	71205	8612	3,11	39,5	1559	0,56	4,49	265	0,09	0,5	27622	9,96	261,1	19903	7,18	147	13244	4,77	75,16
Ukupno	30687	901067	95700			20976			4327			384950			219294			175820		

Prilog 7 Uzgojna struktura gospodarstava po kategorijama

Kategorija	Broj gosp.	Prevalencija	Krmače			Nazimice			Nerasti			Tovljenici			Prasad			Odojci		
			N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
0	551	3,44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	551	1	0	0	0	0	0	0	0
1	16088	3,97	32771	2,04	3,91	6613	0,41	5,11	1767	0,11	0,5	88898	5,53	18,54	60858	3,78	8,06	52287	3,25	8,20
2	11890	4,24	31040	2,61	14,52	6331	0,52	3,21	1914	0,16	0,6	113345	9,52	124,3	65102	5,48	31,53	44867	3,77	31,50
3	2138	7,43	31785	14,87	127,8	7980	3,73	42	631	0,3	2,2	181770	85,02	817,7	93230	43,61	415,8	78544	36,74	419,48
4	20	15	104	5,2	4,83	52	2,6	3,07	15	0,75	0,8	386	19,3	27,29	104	5,2	10,43	122	6,10	13,20

Prilog 8 Distribucija gospodarstava s više od 100 svinja po županijama

Županije	Broj gospodarstava s više od 100 svinja	Broj svinja	Broj krmača
Bjelovarsko-bilogorska	65	22336	1448
Brodsko-posavska	75	54800	1193
Grad Zagreb	6	1068	54
Istarska	3	334	31
Karlovačka	7	1907	349
Koprivničko-križevačka	74	33815	2833
Krapinsko-zagorska	5	1832	219
Ličko-senjska	1	113	8
Međimurska	58	27940	1092
Osječko-baranjska	184	249736	16978
Požeško-slavonska	22	7852	534
Sisačko-moslavačka	22	8110	1051
Splitsko-dalmatinska	7	2126	402
Šibensko-kninska	2	425	77
Varaždinska	31	22855	1931
Virovitičko-podravska	26	6516	632
Vukovarsko-srijemska	112	113276	7409
Zadarska	2	735	110
Zagrebačka	38	49135	3217
Ukupni zbroj	740	604911	39568

10. ŽIVOTOPIS S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Žaklin Acinger-Rogić rođena je 22. rujna 1968. godine u Zagrebu. Udana je i majka troje djece.

Osnovnu školu i prva dva razreda opće srednje škole završava u Ivanić-Gradu, a zatim završava Školu za medicinske sestre u Zagrebu. 1995. godine diplomira na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Odmah po završetku fakulteta počinje raditi kao veterinar pripravnik u Veterinarskoj ambulanti za male životinje - privatna praksa u Ivanić-Gradu od kuda prelazi na radno mjesto tehnologa u proizvodnji stočne hrane u tvrtki Ivaprom d.o.o. u Ivanić-Gradu gdje radi tri godine. 1997. godine zapošljava se u Veterinarskoj stanici Križ d.o.o. kao terenski veterinar. 2004. godine polaže državno sturčni ispit te od tada nastavlja raditi kao ovlašteni veterinar. 2009. godine prelazi u Ministarstvo poljoprivrede na radno mjesto stručni savjetnik za izvješćivanje i komunikaciju u Sektoru za zaštitu zdravlja životinja u Upravi za Veterinarstvo i sigurnost hrane. Sljedeće godine unaprjeđena je na radno mjesto voditeljice Odsjeka za razvoj programa kontrole bolesti životinja, a dvije godine kasnije na radno mjesto voditeljice Odjela za izradu i praćenje programa kontrole bolesti životinja. U razdoblju od 2013. do 2017. godine radi kao viša veterinarska inspekotrica za zravlje životinja te veterinarske organizacije i kontrolna tijela, zatim kao voditeljica Službe za veterinarsku epidemiologiju i zaštitu životinja, a od 2019. godine do danas, radi kao viša savjetnica specijalistica u Odjelu za veterinarsku epidemiologiju.

Radi i kao TAIEX (Technical Assistance and Information Exchange instrument of the European Commission) stručnjak za Europsku komisiju, kao stručnjak u projektima financiranim od strane Europske unije, a kao nacionalni stručnjak sudjeluje u radu Stalnog odbora za biljke, životinje, hranu i hranu za životinje Europske komisije i u radnim i stručnim skupinama za izradu Zakona o zdravlju životinja i sekundarnih uredbi “Animal Health Law working/expert group”.

Kontinuirano se stručno usavršava te je pohađala desetke radionica i seminara u području zdravlja životinja u organizaciji Europske komisije “Better training for safer food”, te Training school Scenario tree modelling, COST Action CA17110, Ljubljana, Slovenija, EuFMD FMD Emergency Preparation Course – e-learning, USDA COHRAN Fellowship Program Veterinary Issues&Food Safety, USA, WOAH Regional Workshop for advanced training on the WAHIS for National Focal Points for Animal Disease Notification to the WOAH, Vladimir, Rusija, Disease Outbreak Management, Copenhagen University, Copenhagen, Danska, MATRA

Training for European Cooperation (MTEC) Animal Health, Wageningen International of Wageningen University and Research Centre, Wageningen, Netherlands i Coordination of SPS Procedures, USD of Commerce, CLDP, Sofia, Bulgaria.

Kao TAIEX stručnjak održala je brojna predavanja na radionicama: Workshop on Biosecurity Measures Applicable to the Poultry Farm, AGR 65487, Workshop on Prevention, Control and Eradication of TSE, AGR 62148, Workshop on Aquatic Animal Health, AGR 61474, Workshop on Wildlife Oriented Zoonotic Diseases, AGR 59668, Workshop on Animal Health Prevention and control of emerging animal diseases, AGR 57771, Workshop on Animal Health Prevention-Vector borne and parasitological diseases, AGR 57769 Workshop on prevention, control and eradication of TSE, AGR 56830, Workshop on animal health requirement of semen and embryos of bovine species in the collection and storage, AGR 56260 te prezentacije "Specific aspect related to floods and potential cascading effects, focusing on cross-border dimension", First WOAH regional workshop on the role of Veterinary Services on animal welfare in natural disasters for Balkan countries 26-28 November 2018, Teramo, Italy, Floods in Croatia – lessons learned, Veterinary preparedness for natural disasters, BTSF Workshop, 11-13 December 2018, Grange, Ireland, European Commission, "Bolest Aujeszkoga – program kontrole" – Veterinarski dani, listopad, 2013., "Novonastale bolesti životinja" – 5. Hrvatski veterinarski kongres, listopad, 2012., "Status klasične svinjske kuge u Republici Hrvatskoj" – Veterinarski dani, listopad, 2011., "Animal health and welfare in the Republic of Croatia" – Pre-Accession Seminar on Animal Health and Welfare, siječanj 2012., "Rabies, Blue tongue and animal disease trade impact" Workshop on the Coordination of SPS Procedures, USD of Commerce, CLDP, September, 2009.

Autorica je i koautorica stručnih i znanstvenih radova.

Predsjednica je Povjerenstva za poljoprivredu Grada Ivanić-Grada.

U slobodno vrijeme bavi se kinologijom i uzgaja Jack Russell terijere pod uzgajivačnicom pasa Mr. Springer.

10.1. POPIS RADOVA

RADOVI U ČASOPISIMA

Znanstveni i pregledni radovi

Karmen Branović Čakanić, Branko Šoštarić, Željko Mihaljević, Šimun Naletilić, Nina Bilandžić, Dunja Vlahović, Antonela Bagarić, Andreja Jungić, Dragan Brnić, Katja Vretenar Špigelski, Tihana Miškić, Tomislav Kiš, Žaklin Acinger Rogić, Sanja Šeparović: Praćenje transmisivnih spongiformnih encefalopatija u Republici Hrvatskoj. // Veterinarska stanica, 53 (2022), 6; 709-721 doi:10.46419/vs.53.6.6 (međunarodna recenzija, pregledni rad, znanstveni)

(COST Action CA17110) Hodnik, Jaka Jakob; Acinger-Rogić, Žaklin; Alishani, Mentor; Autio, Tiina; Balseiro, Ana; Berezowski, John; Carmo, Luís Pedro; Chaligiannis, Ilias; Conrady, Beate; Costa, Lina et al.: Overview of Cattle Diseases Listed Under Category C, D or E in the Animal Health Law for Which Control Programmes Are in Place Within Europe. // Frontiers in veterinary science, 8 (2021), 688078, 13 doi:10.3389/fvets.2021.688078 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni); Corrigendum: Overview of Cattle Diseases Listed Under Category C, D or E in the Animal Health Law for Which Control Programmes Are in Place Within Europe. // Frontiers in veterinary science, 9 (2022), 902559, 5 doi:10.3389/fvets.2022.902559

Oraić, Dražen; Beck, Relja; Pavlinec, Željko; Zupičić, Ivana Giovanna; Maltar, Ljupka; Miškić, Tihana; Acinger Rogić, Žaklin; Zrnčić, Snježana: Bonamia exitiosa in European Flat Oyster (Ostrea edulis) on the Croatian Adriatic Coast from 2016 to 2020. // Journal of marine science and engineering, 9 (2021), 9; 929, 11 doi:10.3390/jmse9090929 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Krešić, Nina; Šimić, Ivana; Bedeković, Tomislav; Acinger-Rogić, Žaklin; Lojkić, Ivana: Evaluation of Serological Tests for Detection of Antibodies against Lumpy Skin Disease Virus. // Journal of clinical microbiology, 58 (2020), 9; 1-7 doi:10.1128/JCM.00348-20 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Zrnčić, Snježana; Oraić, Dražen; Zupičić, Ivana Giovanna; Pavlinec, Željko; Brnić, Dragan; Acinger Rogić, Žaklin; Sučec, Ivica; Steinhagen, Dieter; Adamek, Mikolaj Koi herpesvirus and

carp edema virus threaten common carp aquaculture in Croatia. // Journal of fish diseases, 43 (2020), 1-13 doi:https://.org/10.1111/jfd.13163 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Novosel, Dinko; Tuboly, Tamas; Balka, Gyula; Szeredi, Levente; Lojkic, Ivana; Jungic, Andreja; Acinger-Rogic, Zaklin; Ait-Ali, Tahar; Csagola, Attila: Evidence of CPV2c introgression into Croatia and novel insights into phylogeny and cell tropism. // Scientific reports, 9 (2019), 1; 16909, 12 doi:10.1038/s41598-019-53422-9 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Tuppurainen, E.S.M.; Antoniou, S-E.; Tsiamadis, E.; Topkaridou, M.; Labus, T.; Debeljak, Z.; Plavšić, B.; Miteva, A.; Alexandrov, T.; Pite, L. et al.: Field observations and experiences gained from the implementation of control measures against lumpy skin disease in South-East Europe between 2015 and 2017. // Preventive Veterinary Medicine, 181 (2018), 30548-8, 11 doi:10.1016/j.prevetmed.2018.12.006 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Stručni radovi

Acinger-Rogić, Žaklin; Labrović, Ankica; Jemeršić, Lorena: STATUS KLASIČNE SVINJSKE KUGE U REPUBLICI HRVATSKOJ. // Hrvatski veterinarski vjesnik - Hrvatska veterinarska komora, 19 (2011), 22-25 (podatak o recenziji nije dostupan, članak, stručni)

Drugi radovi u časopisima

Novosel, Dinko; Petrovic, Tamas; Acinger-Rogic, Zaklin; Stukelj, Marina: Epidemiology and status of porcine reproductive and respiratory syndrome in the Western Balkan region: challenges and prospects. // Slovenian veterinary research, 53 (2016), 4; 185-193 (međunarodna recenzija, članak, ostalo)

RADOVI U ZBORNICIMA SKUPOVA

Znanstveni radovi u zbornicima skupova

Knežević, Dražen; Acinger-Rogić, Žaklina; Hengl, Brigita: Semikvantitativna procjena rizika od unosa virusa afričke svinjske kuge u Republiku Hrvatsku. // Veterinarski dani 2018 Opatija,

Republika Hrvatska, 2018. str. 15-21 (predavanje, podatak o recenziji nije dostupan, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni)

SAŽECI SA SKUPOVA

Sažeci u zbornicima i časopisima

Labrović, Ankica; Jemeršić, Lorena; Prpić, Jelena; Keros, Tomislav; Acinger Rogić, Žaklin; Zec, Davor; Tadić, Marko; Staubach, Christoph: Surveillance of classical swine fever in wild boar in Croatia from december 2005 to APRIL 2012. // Prevention of classical swine fever in the border region Croatia - Serbia (STOP-CSF) / Petrović, Tamaš (ur.). Novi Sad: Scientific Veterinary Institute „Novi Sad“,, 2012. str. 258-260 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, stručni)

DRUGA SUDJELOVANJA NA SKUPOVIMA

Novosel, Dinko; Štukelj, Marina; Petrović, Tamaš; Acinger-Rogić, Žaklin: PRRSV control and eradication status in Balkan region, specifically focused on Croatia. // EuroPRRSnet - Final meeting / Tahar Ait-Ali and Spiros Kritas (ur.). Heraklion, Greece, 2013. str. 44-46 (predavanje, sažetak, ostalo)

OSTALE VRSTE RADOVA

Acinger Rogić, Žaklin; Tlak Gajger, Ivana; Beck, Relja; Tomljanović, Zlatko Program kontrole i suzbijanja varooze u 2013. godini., 2013. (podatak o recenziji nije dostupan, brošura).