

ЦИРКОВИРУСНИ БОЛЕСТИ КАЈ СВИЊИТЕ (прегледен труд)

Ристоски Трпе¹, Цветковиќ Искра², Segales Joaquim³

¹Каједра по Патолошка морфологија, Факултетот за ветеринарна медицина-Скопје

² Каједра по Микробиологија и имунологија Факултетот за ветеринарна медицина-Скопје

³ Department de Sanitat i Anatomia Patologica,

Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Barcelona, Spain

e-mail: tristoski@fvn.ukim.edu.mk

АБСТРАКТ

Цирковирусот кај свињите тип 2 (ЦВС2) припаѓа на фамилијата *Circoviridae*. Вирусите од оваа фамилија се карактеризираат како мал, необичен, сферичен вирус, со геном составен од ссДНА.

Вирусот причинува главно суиклинички инфекции, но бројни заболувања кај свињите се поврзани со дејствувањето на овој вирус (Цирковирусни болести кај свињите). Од економски аспект, најзначајно заболување е Мултисистемскиот синдром на слабеење кај одбиени прасиња (Postweaning multisystemic wasting syndrome - PMWS). Болестта најчесто се јавува кај прасиња на возраст од 2 до 5 месеци со знаци на прогресивно слабеење, дијареа и пореметување во дишењето. Бидејќи вирусот има посебен афинитет кон лимфното ткиво, промениите се карактеризираат со намалување на лимфоцитите во лимфоидните органи и со наод на транулоцитна инфилтрација (хистиоцити и мултинуклеарни клетки - џигантоцити).

Денес, со сигурност се знае дека ова заболување е од мултифакторна природа, односно бројни инфективни и неинфективни фактори можат да послужат како активатори за појава на болестта кај ЦВС2-инфицираниите свињи. Болестта е распространета во целиот свет, а за првпат во Р. Македонија е дијагностицирана во 2007 година.

Клучни зборови: цирковирус кај свињите тип 2, мултисистемски синдром на слабеење кај одбиени прасиња

ВОВЕД

Цирковирусот кај свињите - ЦВС (*Porcine circovirus* – PCV) првпат е опишан како вирусна компонента на PK15 клеточна култура во 1974 и се сметал како непатоген вирус за свињите. Кога ЦВС бил докажан кај прасиња заболени со Мултисистемскиот синдром на слабеење кај одбиени прасиња (Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome - PMWS), прашањата поврзани за патогенезата на вирусот продолжиле да се дискутираат и истражуваат (12, 41). Подоцна, било констатирано дека

· докажаниот цирковирус кај заболениите
· прасиња имал различна генотипска структура
· од вирусот присутен во PK15 култура на
· клетки (28, 29). Вирусот кој според генотипот
· бил присутен кај заболениите прасиња бил
· наречен Цирковирус кај свињите тип 2 - ЦВС2
· (*Porcine circovirus type 2* - PCV2), со цел да се
· разликува од цирковирусот присутен во PK15
· култура на клетки, кој бил наречен
· Цирковирус кај свињите тип 1 - ЦВС1 (*Porcine
· circovirus type 1* - PCV1) (26, 28). Во 1998 година
· биле направени неколку експериментални
· истражувања со цел да се предизвика PMWS

со примена на ЦВС2 како единствен причинител. Во најголем дел од обидите да се предизвика болеста изостанал потполниот спектар на промени кои се јавуваат на теренот под природни услови (2, 7, 21, 33)

Денес, ЦВС2 болеста се смета за ензоотска болест во свињарското производство и заболуваат свињи од скоро сите возрасти (9). Кофакторите, како што се стимулација на имунолошкиот систем, едновремена инфекција, како и генетската predisпозиција се главни теми на кои се темелат понатамошните истражувања за болеста (40). Исто така, денес не постојат дилеми околу поврзаноста на ЦВС2 и Мултисистемскиот синдром на слабење кај одбиени прасиња (PMWS), меѓутоа, сè уште се истражува дефинитивниот патогенетски модел кој го објаснува механизмот на кој ЦВС2 инфекцијата кулминира во PMWS.

Според најновите истражувања, ЦВС2 учествува во појавата и на други патолошки состојби кај свињите, кои се нарекуваат Цирковирусни болести кај свињите (Porcine circovirus diseases – PCVD) (40). Покрај PMWS, во Цирковирусни болести кај свињите се вбројуваат: Синдромот на дерматитис и нефропатија кај свињите (Porcine dermatitis and nephropathy syndrome – PDNS); т.н. Комплекс на респираторна болест кај свињите (Porcine respiratory disease complex – PRDC); Пролиферативна и некротизирачка пневмонија (Proliferative and necrotizing pneumonia – PNP); како и поедини репродуктивни заболувања, додека конгениталниот тремор тип АП денес не се смета за цирковирусно заболување (14, 38).

КАРАКТЕРИСТИКИ И ЗНАЧЕЊЕ НА БОЛЕСТА

Во 1995 година од страна на Меѓународниот комитет за таксономија на вирусите (International Committee for the Taxonomy of Viruses – ICTV) основана е фамилијата *Circoviridae*, во која спаѓа новооткриен мал, необвиткан, сферичен вирус, со геном составен од ссДНК, кој е инфективен за птици, рбетници и растенија.

ЦВС2 вирусот е инфективен за домашните и дивите свињи. Серолошките испитувања ја исклучуваат можноста за инфекција со овој вирус на говедата, овците, козите, коњите, кучињата, мачките, глувците и човекот (4, 3, 13, 40).

ЦВС2 инфекцијата е широко распространета во светот меѓу популацијата домашни свињи, независно од здравствениот статус на истите, како и нивната клиничка состојба (4, 40). Кај дивите свињи, серопреваленцијата на ЦВС2 обично е помала, се движи во граници од 33 до 48%, но податоци за постоење на болеста се сретнуваат во сите земји каде се спроведени истражувања (41). Заболениите свињи, но и асимптоматските свињи долго време го шират вирусот во околината, докажано е дека вирусот се излучува во текот на активната фаза од неговата репликацијата (9, 40).

Според условите кои се сретнуваат во комерцијалните свињарски фарми, најголем дел од заболениите свињи се на возраст од 2 до 5 месеци, што покажува дека најчест пренос на болеста помеѓу свињите е хоризонталниот начин. Хоризонталниот начин на пренесување на болеста е докажан и во експериментални услови, при контакт на приемливи свињи со свињи кои веќе биле заболени (1, 8).

Податоците за појавата на вертикален пренос на болеста во природни услови се многу различни, поедини автори говорат дека истиот во Европа многу ретко се случува, додека податоците од Кореа покажуваат дека околу 13% од абортусите и мртвородените прасиња припаѓаат на ЦВС2 инфекција.

Постојат разни методи за дијагностика на ЦВС2 и тоа од ткиво, крв, серум, мукозни екскрети, измет или урина. Испитувањата на ткива со примена на методите *in situ* хибридизацијата (*in situ* hybridisation - ISH) (11, 27, 29, 35, 37) и имунихистохемскиот метод (27, 29, 35) се најупотребувани методи за рутинска дијагностика на ЦВС2. Постојат и други методи за детекција на ЦВС2 геномот, вклучувајќи PCR (15, 16, 29, 30) и qPCR (24).

Специфичните ЦВС2 антитела можат да бидат детектирани и со примена на имунопероксидаза (Immunoperoxidase monolayer assay - IPMA), ELISA и со индиректна имунофлуоресценција (42).

МУЛТИСИСТЕМСКИ СИНДРОМ НА СЛАБЕЊЕ КАЈ ОДБИЕНИ ПРАСИЊА (POSTWEANING MULTISYSTEMIC WASTING SYNDROME - PMWS)

Како што беше претходно изнесено, досега се опишани повеќе форми на Цирковирусни болести кај свињите, но

најзначајно заболување од економски аспект е РМWS кое е распространето низ целиот свет (40). Денес со сигурност РМWS е дефиниран како мултифакторно заболување кое вклучува инфекција со ЦВС2 како и влијание на други инфективни и неинфективни фактори кои служат како активатори за развој на клиничките знаци.

Според најновите истражувања во областа на свињарството, констатирано е дека Цирковирусните болести кај свињите, особено РМWS имаат најголемо влијание врз свињарското производство. Проценето е дека Европската Унија годишно губи околу 600 милиони евра како последица од цирковирусните заболувања. Директните губитоци настануваат како последица на угинување на прасињата и товениците, како и од недоволниот напредок на прасињата и нивната неможност да ја достигнат кланичната тежина. Индиректните губитоци доаѓаат како резултат на зголемена употреба на антибиотици со цел да се контролираат секундарните бактериски инфекции, како и промените во менаџментот на фармата во правец на намалување на влијанието на РМWS.

Од РМWS заболуваат свињи од 7 до 20 неделна возраст, се јавува главно кај повозрасните прасиња и во раната фаза од тоовот, но заболувањето е опишано и кај свињи на возраст од 1 до 6 месеци (17). Само во еден случај опишано е заболување кај прасиња на возраст од 3 дена (18). РМWS е опишан скоро во сите типови свињарски фарми (фарми за тов, фарми за одледување на прасиња), како и во фарми кои имаат од 30 до 10 000 маторици (5, 40).

Морталитетот и морбидитетот се варијабилни и зависат од фармата, начинот на чување на животните, а се движи во граници од 4-30% односно 70-80% (39).

Најчестите клинички знаци на болеста се прогресивно слабеење, тешко дишење, зголемени површински ингвинални лимфни јазли, бледило, жолтица и дијареа. Исто така, може да се појават кашлица, треска, пореметување на централниот нервен систем и ненадејно угинување (17, 20, 32).

Во фармите со РМWS заболени свињи, почесто се јавуваат и други инфекции и болести во споредба со фармите кои се слободни од РМWS. Во овие болести спаѓаат аџејцкиевата болест (Pseudorabies), PRRS, парвовируса кај свињите, гласеровата болест,

стрептококниот менингитис, салмонелоза, колибацилоза, неспецифични диареи, hepatitis dietica како и бактериски пневмонии (6, 14).

При појавата на РМWS најголеми оштетувања настануваат кај имунолошкиот систем кај свињите. Како во природни, така и во експериментални услови настанува намалување на лимфоцитите во лимфоидното ткиво, промена на клеточната суппопулација во периферната крв и промени во експресијата на цитокините кај заболените свињи.

Патолошко-анатомските промени за РМWS не се специфични. Во потешки случаи кај свињите може да се јави бледило на кожата, кахексија и зголемени лимфни јазли (ингвинални, субмандибуларни, мезентеријални и медијастичални лимфни јазли) (17, 35). Исто така, опишани се промени како атрофија на лимфните јазли со појава на мултифокални до дифузни некротични подрачја, намалена или зголемена слезина со портокалово жолта боја и иктерус (20, 34).

Од нелимфоидните ткива најчести промени се среќаваат на белите дробови. Кај нив се забележува супакутна интерстицијална пневмонија со зголем број хистиоцити и наод на мултинуклеарни клетки (гигантоцити) во задебелениот интералвеоларен сид или во алвеолите. Среден до голем број РМWS заболени свињи покажуваат кранио-вентрална белодробна консолидација и улцерации на езофагогастричниот дел од желудникот со профузни крварења и атрофија на мастите (40). Во хронични случаи, може да се сретне фиброзен и облитеративен бронхиолитис (40, 35). Кај одредени животни се забележува намалување на бројот на лимфоцитите и хистиоцитна инфилтрација во БАЛТ (Bronchus-associated lymphoid tissue). Опишани се промени на црниот дроб, како и воспаление на цревата. Промените на црниот дроб се карактеризираат со лимфохистиоцитна воспалителна инфилтрација во порталната зона, поединечни некрози на хепатоцитите, оток и вакуолизација на цитоплазмата од хепатоцитите и кариомегалија. Поретко кај заболените свињи се сретнува хроничен интерстицијален нефритис во кој се забележува голем број ЦВС2 антиген (35). Останати микроскопски промени што се среќаваат кај РМWS заболените свињи се мала до средна лимфохистиоцитна

воспалителна инфилтрација на скоро сите ткива.

● Дијагноза на PMWS

Конечна дијагноза за PMWS се поставува врз основа на три критериуми. Во првиот критериум вклучени се соодветните клинички знаци (основен е слабеење), вториот, наод на карактеристични патохистолошки промени на лимфоидното ткиво, и третиот, наод на ЦВС2 (антиген и/или нукленска киселина) во микроскопските лезии. Најважно е да се напомене дека најголемо влијание врз поставувањето на конечната дијагноза за PMWS имаат средни до интензивни промени на лимфоидното ткиво, како и средно до изразено присуство на ЦВС2 во хистолошки променетото лимфоидно ткиво (39).

Развиени се разни лабораториски методи за дијагностика на PMWS. Како "златен стандард" се смета методот кој едновременно вклучува детекција на ЦВС2 со констатирање на ткивните промени. Поради тоа, *in situ* хибридизацијата (*in situ* hybridisation) и имунохистохемискиот метод се најчесто применувани методи (27, 35).

ЦВС2 може да се дијагностицира и со примена на PCR методот кај PMWS заболени и PMWS незаболени свињи, со примероци земени од нос, фецес, урина, плунка, очен исподок и тонзили (10, 16, 19, 22, 25, 40).

КОНТРОЛНИ МЕРКИ И ВАКЦИНАЦИЈА ПРОТИВ ЦВС2

Имајќи го во предвид податокот дека ЦВС2 е убиквитарно заболување, мерките кои можат да се преземат за контрола на болеста се минимални. Мултифакторната природа на ова заболување укажува дека ефективните контролни мерки треба да бидат фокусирани кон разбирање на кофакторите и активаторите вклучени во одредени фарми и контролата или отстранувањето на неспецифичните фактори. Најистражувани кофактори и активатори во однос на развојот

на болеста или заштитата од болеста се однесуваат на менаџментот (17), тековните вирусни инфекции (39), стимулацијата на имунолошкиот систем (4, 23), исхраната и генетиката (31).

До денес се опишани неколку вакцини против ЦВС2 кои се базирани на инактивиран ЦВС2 изолат, на т.н. химера вирус (генот од ЦВС2 капсидот клониран во геномот на непатогениот ЦВС тип 1), ДНК и субединични вакцини. Во сите случаи, вакцините ги намалуваат лезиите на лимфоидното ткиво, излучувањето на вирусот и должината на вiremијата.

Повеќе од половина милион маторици денес се вакцинираат во Европа и Канада, земји во кои е постигнато значително намалување на морталитетот по одбивањето на прасињата.

СОСТОЈБА СО ЦИРКОВИРУСНИТЕ БОЛЕСТИ КАЈ СВИЊИТЕ ВО Р. МАКЕДОНИЈА

Првите показатели за присуството на Цирковирусот кај свињите тип 2 во Р. Македонија врз основа на клиничките симптоми потекнуваат од поодамна, но официјално за првпат ЦВС2 е дијагностициран во 2007 година (36). Сè уште со сигурност не можеме да ја потврдиме точната епизоотиолошка состојба за оваа болест кај нас, но досега болеста е дијагностицирана само во поедини фарми и тоа во спорадични случаи.

Бидејќи низ фармите во Р. Македонија не е воспоставена посебна програма за заштита од ова заболување, на фармите им се препорачува внимателно следење на состојбата. Навременото откривање на болеста, како и преземањето соодветни превентивни мерки значително ќе ги намали економските загуби во фармата.

Во поглед на дијагностиката, Факултетот за ветеринарна медицина во Скопје истата ја спроведува со примена на имунохистохемискиот метод, како еден од најдобрите дијагностички методи за оваа болест.

PORCINE CIRCOVIRUS DISEASES (review article)

Ristoski Trpe¹, Cvetkovic Iskra², Segales Joaquim³

¹ Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

²Department of Microbiology and Immunology:, Faculty of Veterinary Medicine-Skopje

³ Department de Sanitat i Anatomia Patologica,

Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Barcelona

e-mail: tristoski@fvm.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Porcine circovirus type 2 belongs on the family Circoviridae. This virus family includes small, non-enveloped viruses, with a circular, single-standed DNA genome.

This virus causes mainly subclinical infections, but a number of diseases have been linked to it (porcine circovirus diseases, PCVD). The most economically important PCVD is postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS), which mainly affects pigs of 2 to 5 months of age, with progressive wasting, diarrhea and respiratory disorders. Main PMWS lesions are found in lymphoid tissues, which are characterized by lymphocyte depletion with granulomatous (histiocytic and multinucleate giant cell) infiltration.

PMWS is considered as multifactorial disease, with a number of infectious and non-infectious factors able to act as disease triggering in PCV2 infected pigs. PCVDs are worldwide distributed, and PMWS was diagnosed in Macedonia in 2007.

Key words: porcine circovirus type 2, postweaning multisystemic wasting syndrome

ЛИТЕРАТУРА

1. Albina E, Truong C, Hutet E, Blanchard P, Cariolet R, L'Hospitalier R, Mahé D, Allée C, Morvan H, Amenna N, Le Dimna M, Madec F and Jestin A (2001): An experimental model for post - weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in growing piglets. *Journal of Comparative Pathology*; 125: 292 - 303.
2. Allan GM, Kennedy S, McNeilly F, Foster JC, Ellis JA, Krakowka S, Meehan BM and Adair BM (1999): Experimental reproduction of severe wasting disease by co-infection of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 1 - 11.
3. Allan GM and Ellis JA (2000): Porcine circoviruses: a review. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*; 12: 3 - 14.
4. Allan GM, McNeilly F, Ellis J, Krakowka S, Meehan B, McNair I, Walker I, and Kennedy S (2000): Experimental infestation of colostrum deprived piglets with porcine circovirus 2 (PCV2) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) potentiates PCV2 replication. *Archives of Virology*; 145: 2421 - 2429.
5. Allan GM, McNeilly F, Kennedy S, Meehan B, Ellis J and Krakowka S (2000); Immunostimulation, PCV - 2 and PMWS. *Veterinary Record*; 147: 170 - 171
6. Allan GM, McNeilly F, Meehan BM, Ellis JA, Connor TJ, Mc Nair I, Krakowka S and Kennedy S (2000): A sequential study of experimental infestation of pigs with porcine circovirus and porcine parvovirus: Immunostaining of cryostat sections and virus isolation. *Journal of Veterinary Medicine*; 47: 81 - 94.
7. Balasch M, Segales J, Rosell C, Domingo M, Mankertz A, Urniza A and Plana - Duran J (1999): Experimental inoculation of conventional pigs with tissue homogenates from pigs with post weaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 139 - 148.
8. Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GPS and Hamel AL (2001): Postweaning multisystemic wasting

- syndrome induced after experimental inoculation of cesarean - derived, colostrum - deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*; 13: 185 - 194.
9. Calsaming M, Segales J, Quintana J, Rosell C and Domingo M (2002): Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 40: 1848 - 1850.
 10. Celer Jr V and Carasova P (2002) First evidence of porcine circovirus type 2 (PCV - 2) infection of pigs in the Czech Republic by semi-nested PCR. *Journal of Veterinary Medicine*; 49: 155 - 159.
 11. Choi C and Chae C (1999): In - situ hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 121: 265 - 270.
 12. Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Tood D and Haines D (1998): Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Canadian Veterinary Journal*; 39: 44 - 51.
 13. Ellis J, Konoby C, West KH, Allan GM, Krakowka S, McNeilly F, Meehan B and Walker I (2001): Lack of antibodies to porcine circovirus type 2 virus in beef and dairy cattle and horses in western Canada. *Canadian Veterinary Journal*; 42: 461 - 464.
 14. Ellis J, Clark E, Haines D, West K, Krakowka S, Kennedy S and Allan GM (2003): Porcine circovirus-2 and concurrent infections in the field. *Veterinary Microbiology*; 98: 159 - 163.
 15. Fenaux M, Halbur PG, Gill M, Toth TE and Meng XJ (2000). Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV - 2) from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR - restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV - 1 and PCV - 2. *Journal of Clinical Microbiology*; 38: 2494 - 2503.
 16. Hamel AL, Lin LL, Sachvie C, Grudeski E and Nayar GP (2000): PCR detection and characterization of type - 2 porcine circovirus. *Canadian Journal of Veterinary Research*; 64: 44 - 52.
 17. Harding JCS and Clark EG (1997): Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health and Production*: 5: 201 - 203.
 18. Hirai T, Nunoya T, Ihara T, Kusanagi K and Shibuya K (2001): Dual infection with PCV - 2 and porcine epidemic diarrhoea virus in neonatal piglets. *Veterinary Record*; 148: 482 - 284.
 19. Kim J, Choi C, Han DU and Chae C (2001): Simultaneous detection of porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus in pigs with PMWS by multiplex PCR. *Veterinary Record*; 149: 304 - 305.
 20. Kim J, Chung HK, Jung T, Cho WS, Choi C and Chae C (2002). Postweaning multisystemic wasting syndrome of pigs in Korea: Prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. *Journal of Veterinary Medical Science*; 64: 57 - 62.
 21. Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, Ringler S, Rings DM and Allan G (2001): Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus - 2 (PCV). *Veterinary Pathology*; 38: 31 - 42.
 22. Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F and Allan G (2000): Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Veterinary Pathology*; 37: 254 - 263.
 23. Kyriakis SC, Saoulidis K, Lekkas S, Miliotis CC, Papoutsis PA and Kennedy S (2002): The effects of immuno - modulation on the clinical and pathological expression of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Comparative Pathology*; 126: 38 - 46.
 24. Liu Q, Wang L, Willson P and Babiuk LA (2000): Quantitative, competitive PCR analysis of porcine circovirus DNA in serum from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 38: 3474 - 3477.
 25. Magar R, Larochelle R, Thibault S and Lamontagne L (2000): Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaning pigs: a sequential study.

- Journal of Comparative Pathology; 123: 258 - 269.
26. Mankertz A, Mankertz J, Wolf K and Bunk HJ (1998): Identification of a protein essential for replication of porcine circovirus. *Journal of General Virology*; 79: 381 - 384.
27. McNeilly F, Kennedy S, Moffet D, Meehan B.M, Foster J.C, Clarke E.G, Ellis J.A, Haines D.M, Adair B.M, Allan G.M (1999): A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin - fixed tissues from pigs with post - weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Virological Methods* 80: 123 - 128.
28. Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM and Allan GM (1998): Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *Journal of General Virology*; 79: 2171 - 2179.
29. Morozov I, Sirinarumit T, Sorden SD, Halbur PG, Morgan MK, Yoon KJ and Pael PS (1998): Detection of a novel strain of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*; 36: 2535 - 2541.
30. Nayar GPS, Hamel A and Lin L (1997): Detection and characterization of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Canadian Veterinary Journal*; 38: 385 - 386.
31. Opriessnig T, Janke BH and Halbur PG (2006): Cardiovascular lesions in pigs naturally or experimentally infected with Porcine Circovirus Typa 2. *Journal of Comparative Pathology*, Volume 134, Issue 1, p. 105-110.
32. Quintana J, Segales J, Rosell C, Calsamiglia M, Rodríguez - Arrijoja GM, Chianini F, Folch JM, Maldonado J, Canal M, Plana - Durán J and Domingo M (2001): Clinical and pathological observations of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Veterinary Record*; 149: 357 - 361.
33. Rovira A, Balasch M, Segales J, Garcia L, Plana - Duran J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A and Domingo M (2002): Experimental inoculation of conventional pigs with Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome and Porcine Circovirus 2. *Journal of Virology*; p. 3232-3239.
34. Rosell C, Segales J, Ramos - Vara JA, Folch JM, Rodríguez - Arrijoja GM, Duran CO, Balascho M, Plana - Duran J and Domingo M (2000): Identification of porcine circovirus in tissue of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Veterinary Record*; 146: 40 - 43.
35. Rosell C, Segales J, Plana - Duran J, Balasch M, Rodriguez - Arrijoja G.M, Kennedy S, Allan G.M, McNeilly F, Latimer K.S and Domingo M (1999): Pathological, Immunohistochemical and In - situ Hybridization Studies of Natural Cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in Pigs. *J. Comp. Path.* 120, 59 - 78.
36. Ristoski T, Mrenoski S, Cvetkovic I (2007): First report of Circoviral infection in pigs in Republic of Macedonia. 25th ESVP Meeting, 29.August-1. September, Munich, Germany.
37. Segales J, Ramos-Vara JA, Duran CO, Porter A, Domingo M (1999): Diagnosing infectious disease using in situ hybridization. *Swine Health Prod.* 7 (3): 125 - 128.
38. Segales J (2002): Update on postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome diagnostic. *Journal of Swine Health and Production* 10 (6): 277 - 281.
39. Segales J and Domingo M (2002): Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Veterinary Quarterly*; 24(3); 109-124.
40. Segales J, Allan G.M, Domingo M (2005): Porcine Circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 6 (2): 119 - 142.
41. Tischer I, Miels W, Wolff D, Vagt M and Griem W (1986): Studies on the pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology*; 91: 271 - 276.
42. Wellenberg GJ, Pasch S, Bernadsen FW, Steverink PJGM, Hunneman W, Vorst TJK van der, Peperkamp NHMT, Ohlinger VF, Schippers R, Oirschot JT van and Jong MF de (2000): Isolation and characterization of porcine circovirus type 2 from pigs showing signs of post - weaning multisystemic wasting syndrome in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*; 22: 167 - 172.