



EPIZOOTIOLOGIJA- nauk, ki proučuje masovne pojave pri živalih. Predmet proučevanja je pojavljanje, razvoj, gibanje, zatiranje, odstopanje od fiziološkega stanja zdrave živali. Proučuje vzroke za nastanek, razvoj in prenehanje kužne bolezni, metode za hitro prepoznavanje epizootij (diagnostične metode), metode profilakse (preprečevanja) epizootij, katerih cilj je eradikacija bolezni, metode za preprečevanje prenašanja kužnih bolezni z živali na ljudi (zoonoze). Pri vsaki stvari skušamo najti kužni krog; povzročitelja, vstop in izstop povzročitelja.

OSNOVNI EPIZOOTIOLOŠKI POJMI

- **SPORADIČNI** primeri
 - Pojavljajo se brez časovne omejitve in na področju, kjer ta bolezen trajno ni prisotna (primer; črne kože pri ljudeh – vnesena od drugod)
- **ENZOOTSKO (ENDEMIČNO)**
 - Pojavljanje na določenem področju neodvisno od števila obolelih; tendenca širjenja na druga področja (antraksovi distrikti)
 - Glede na število obolelih ločimo;
 - **HIPERENZOOTSKO**
 - **MEZOENZOOTSKO**
 - **HIPOENZOOTSKO** stanje
- **ENZOOTSKA TOLERANCA**
 - Situacija, ko se bolezen ne pojavlja, povzročitelj pa je še vedno prisoten
- **EPIZOOTSKO**
 - Pojavljanje večjega števila obolenj pri eni ali več vrstah živali, s tendenco širjenja na sosednja področja. Fenomen ledene gore – BSE
- **EPIZOOTIJA**
 - Zajame posamezno dvorišče, naselje, več naselij, cele dežele
- **PANZOOTIJA**
 - Bolezen nastopi v velikem številu primerov, ni krajevno omejena, zajame cele države ali kontinente

DELAVNE METODE V EPIZOOTIOLOGIJI

- *Opisna ali zgodovinska metoda*- obstaja odkar so ljudje zapisovali o posamezni epidemiji ali epizootiji (Mezopotamci, Turki)
- *Primerjalna zgodovinska metoda*- primerjava različnih kužnih bolezni med seboj; iz izsledkov potegnemo sklepe
- *Statistična metoda*- pojavi se z razvojem matematike v 19. stol.. pojavijo se novi pojmi;
 - **MORBIDNOST, MORBIDITETA, OBOLEVNOST**
 - Odnos med številom zbolelih živali za neko boleznijo na določenem področju, ob določenem času in med številom vseh živali te vrste

$$M = \frac{\text{število obolelih}}{\text{število vseh živali te vrste}} \times K$$
 - Pri tem je K konstanten; 100% obolevnost izrazimo v %, lahko pa je K tudi 1000, 10.000, če je zbolelo malo živali
 - **MORTALNOST, MORTALITETA, UMRLJIVOST**
 - odnos med številom poginulih živali in številom vseh rizičnih živali
 - **LETALNOST, SMRTNOST**
 - Razmerje med številom poginulih in številom zbolelih živali določene vrste

$$\text{LETALNOST} = \frac{\text{št. poginjenih}}{\text{št. zbolelih živali}} \times 100$$
 - **INCIDENCA**

- opredeljuje pojav novih izbruhov določene bolezni v določenem časovnem obdobju

INCIDENCA= št. izpostavljenih živali/št. novoobolelih v obdobju x X100

o PREVALENCA

- Izrazimo jo na dva načina;
 - TRENUTNA (št. obolelih v določenem trenutku)
 - ČASOVNA (št. obolelih v časovnem obdobju)

PREVALENCA = št. izpostavljenih v trenutku x/ št. Obolelih v trenutku x X100

Poleg opisanih poznamo še:

- *Eksperimentalne metode* (poskusi imitacij epidemij z biološkimi poskusi)
- *Analitične metode* (analiza pojava bolezni)
- *Sociološke/ekološke metode* (prehrana, nega, izkoriščanje živali...)

INFEKCIJA-OKUŽBA

- je prodor in razmnoževanje patogenih MO v organizmu človeka, živali, rastline
- posledica okužbe je lahko, vendar ne vedno, kužna bolezen
- pogoji, da makroorganizem zboli za kužno boleznijo:
 1. makroorganizem mora biti sprejemljiv za določen MO
 2. obstajati mora patogeni ali za infekcijo sposobni MO
 3. MO mora dobiti priložnost za kontakt, možnost naselitve v makroorganizmu
- prenos infekcije:
 - vertikalni (naslednja generacija)
 - horizontalni (ista generacija)
 - s kontaktom/preko posrednika (voda, zemlja, predmeti...)
- nalezljive bolezni so tudi kužne (infekcijske), niso pa vse kužne bolezni tudi nalezljive!

KUŽNA BOLEZEN

- je zapleten biološki proces, v katerem sodelujejo MO in makroorganizem
- gre za stanje, ko se pri gostitelju pojavijo bolezenska znamenja
- *infekcijska veriga* je sistem niza dejavnikov, kot so gostitelj, povzročitelj, potek prenosa infekcijskega agensa, vpliv okolja
- prenos MO z enega na drug organizem imenujemo kužna bolezen
- infekcijska veriga ima eksogeni (izven živali) in endogeni (MO kroži v organizmu)polkrog
- Kochovi postulati-zahteve, ki morejo biti izpolnjene, da imamo lahko neke MO za povzročitelje:
 1. klice morajo biti specifične za določeno bolezen
 2. Mo moramo izolirati v čisti kulturi
 3. Izolirani MO morajo povzročiti isto bolezen tudi pri poskusni živali
 4. MO lahko osamimo tudi iz namerno okuženih živali v čisti rasti
- vendar obstajajo *izjeme*:
 - o če so MO dalj časa na gojišču izgubijo virulenco in niso več sposobni povzročiti bolezni. Prav tako lahko povečajo ali zmanjšajo virulenco pasaže
 - o nekateri MO so lahko patogeni samo v prisotnosti drugega MO
 - o virusi ne rastejo na umetnih gojiščih (jih je pa možno izolirati na celični kulturi)

- 2 značilnosti MO, ki povzročajo bolezni:
 - o *invazivnost*-sposobnost prodora v organizem, razmnoževanje in širjenje po njem
 - o *toksigenost*-sposobnost proizvodnje toksinov
- infekcije s kratkim ciklusom- virus pasje kuge (pridružijo se sek. infekcije);po tednu dni žival brez virusa - tvorba pt
- perzistenca mikrobov- kronične infekcije (TBC, herpesvirus)
- tvorba rezistentnih oblik (B. anthracis, C. tetani, orthopoxvirus)
- rezervoarji infekcij; vlažno okolje, prenašalci (klopi) vrste infekcij:
 - o naravna, prirodna
 - o umetna, eksperimentalna
 - o lokalna, splošna (bakterjemija, viremija), monogena (samo z enim povzročiteljem), mešana (2 ali več različnih MO), sek. infekcija
 - o superinfekcija (dodatna okužba obolelega z isto vrsto MO), reinfekcija (preboli, kratek čas imun/ali ne, takoj zbolijo za isto boleznijo)
 - o recidiva (preboli, povzročitelj ne izloči, čez čas spet zbolijo)
 - o žariščna, fokalna (TBC)
 - o inaparentna (ni kl. znakov)
 - o latentna (agens prikrit, ob stresu se aktivira)
- potek je lahko:
 - o kliničen
 - o subkliničen
 - o glede naintenzivnost pa:
 - o perakuten, akuten, subakuten, kroničen, subkroničen, latenten

EPIZOOTIOLOŠKI DEJAVNIKI

1. virulenca MO in njihova infekcijska faza
2. vir okužbe (infekcije)
3. poti širjenja okužbe in načini prenosa
4. vdorno mesto infekta
5. dovzetnost ali dispozicija gostitelja
 - med seboj so povezani v *kužni krog/epizootiološko verigo*
 - če manjka le en člen se kužna bolezen ne pojavi
 - če izločimo iz kroga le en člen pa lahko bolezen zatremo

Povzročitelj

Izstop **Kužni krog** vstop

širjenje

1. VIRULENCA MO

- virulenca je sposobnost MO, da povzroči okužbo
- patogeni Mo spadajo v skupino heterotropnih organizmov
- delimo jih na:
 - o *saprofite*- živijo na mrtvi organski snovi
 - o *parazite*- živijo v gostitelju in mu pri tem na različne načine škodijo
 - *komezale*- živijo v gostitelju, vendar ne škodujejo (e. coli v črevesju)
 - o *simbionte*- gostitelju jemljejo hrano, vendar mu koristijo (lišaji)
- ločimo:
 - o *apatogeni* (pod nobenimi pogoji niso patogeni za nobeno živalsko vrsto)
 - o *fakultativno patogeni* (škodljivi pod določenimi pogoji)
 - o *obligatorno patogeni* (vedno škodijo gostitelju)
- 90% mikrobov ima zelo pomembno vlogo v naravi (okolju)
- tudi naš prebavni sistem je poln MO, ki so nujno potrebni pri prebavi
- *kužni spekter mikroba*- sestoji iz števila živalskih vrst, ki so dovzete zanj
- DLM in DMI:
 - o DLM- dosis letalis minima
 - o DMI- dosis media infecta
 - o Pri bakterijah ugotavljamo s štejetjem klic pred umetno okužbo
 - o Pri toksinih ugotovimo s tehtanjem toksina pred poskusom
 - o Pri virusih ločimo: količino virusa v neki suspenziji 50% infektivna doza ID₅₀ t.j. količina virusa, ki pri 50% inficiranih živali povzroči obolenje
 - o 50% letalna doza LD₅₀: t.j. količina virusa, ki pri 50% inficiranih živali povzroči smrt
- virus dokazujemo z molekularnimi metodami ali pa s tem, da ga sekveniramo?
- Vedno bolj se izogibamo biološkemu poskusom
- Virulenca MO in njihova ID sta lastnosti patogenih MO da:
 - o Pridejo v tkivo gostitelja
 - o Upirajo se obrambnim mehanizmom gostitelja
 - o Razmnožujejo se v gostitelju
 - o Povzročajo večja ali manjša obolenja

2. VIR OKUŽBE

- primarni viri:

- o bolne živali klicenosci živali in ljudje
- o proizvodi bolnih živali in klicenoscev
- o surovine bolnih živali
- o trupla živali
- o divje živali
- o členonožci (arthropoda)

- intermediarni viri: - izločki (sekreti, ekskreti)

- najnevarnejši so *rekonvalescentni klicenosci* ti preživijo neko bolezen, vendar pa se povzročitelj ne uspe izločiti
- *kronični klicenosci* so podgane npr. pri leptospirozi (se razmnožujejo v urogenitalnem traktu in se potem izločajo z urinom)
- vrste klicenoscev:
 - o urogenitalni
 - o hematogeni
 - o oralni
 - o intestinalni
 - o nazalni
 - o konjunktivalni
 - o dermalni
 - o galaktogeni
- človek bi lahko na žival prenesel npr TBC, salmonelozo
- pri proizvodih je najpogostejši vzrok mleko, pri surovinah pa surove kože antraks
- trupla (sveža 2-3dni po smrti) so max. okužena
- če divji prašiči zbolijo za KPK, lahko to prenesejo na domače
- klopi so aktivni vir, istočasno tudi rezervoar (klopni meningitis, Coxiella)

MO

- saprofit
- komenzal
- parazit(patogen, apatogen)
- simbiont
- virulenca
- patogenost
- antigenost
- tenaciteta
- količina (doza)

Človek, žival

- vhodi: koža, sluznica, placenta
- dovzetnost, odpornost (splošna, posamična)
- način držanja živali
- prehrana
- izkoristek
- velikost populacije
- klima

okolje

- izvori infekcij (primarni, sekundarni)
 - širjenje infekcije
 - o kontakt
 - o placenta
 - o zrak
 - o voda

- zemlja
- živali
- transport

primarni viri

- bolne živali, klicenosci, človek, proizvodi, surovine, trupla, divje živali

intermediarni viri

- izločki bolnih živali, izločki klicenoscev

sekundarni viri

- zemlja, pašniki, voda, zrak, hrana, krma, kontaminirani predmeti, prostori, prometna sredstva

- v zemlji najdemo klostridije (c. Tetani); velik problem pri konjih, ker so dovzetni in so klostridiji lahko njihova normalna črevesna mikroflora
- druga nevarnost pa je antraks (zakopali so mrtve živali, ki so poginile zaradi antraksa na poplavnem območju antraksovi distrikti; Brežice, blizu cerkniškega jezera..)
- rezervoarji:
 - so primarni viri okužbe
 - za steklino; lisice, jazbeci
 - klopi (meningitis)
 - komarji (malarija)
- **sekundarni viri okužbe**
- zemlja, pašniki
- voda, zrak
- hrana, krma
- kontaminirani predmeti, prostori, prometna sredstva
- **zemlja:**
 - antraksovi distrikti (spore lahko pridejo na površje, se prilepijo na travol vse živali je treba cepiti)
 - tetanus cepljenje proti tetanusu
- **voda:**
 - lahko pride do epidemij
 - večja možnost je, da pride do okužbe pri stoječih vodah (trstičje kot naravna čistilna naprava), lužah
 - globlja kot je voda, manj je okužena
 - okuženi nastavki in ventili s katerih živali pijejo
- **zrak:**
 - s kašljanjem aerosol, ki lebdi glede na velikost kapljic
 - kapljične okužbe ali pa s prahom kjer so se te kapljice posušile
 - zrak v hlevih je odvisen od higiene
 - perutninske farne imajo veliko prahu v zraku
- **hrana, krma:**
 - lahko so že rastline kontaminirane
 - ribja moka ptiči lahko defecirajo nanjo (salmonele...)
- **predmeti:**
 - odvisno je tudi od doze infekta, da pride do okužbe
 - po izpraznjenju hleva je treba vse počistiti, razkužiti in pustiti prazno nekaj časa
 - iatrogena okužba (brizge, igle- ne menjujejo v eni jati)

- o porodne vrvi iz konoplje
- **prostor:**
 - o hlevi, rampe za razkuževanje, inkubatorji
- **prevozna sredstva:**
 - o kamione je potrebno dobro razkužiti
 - o pasivni vir okužbe je lahko tudi veterinar^o razkuževanje škornjev!!

3. POTA ŠIRJENJA-PRENAŠANJE OKUŽBE

1. stik

- *direktni stik*-telesni (spolno prenosljive bolezni preprečimo z umetnim osemenjevanjem); spolne infekcije, ugrizi, eksantematične kužne bolezni, bolezni z ulcerativnimi spremembami, bolezni z izcedkom
- *indirektni stik*- predmeti, živali(na dlaki, nogah, prenašajo infekt sami pa niso nujno bolni), človek,
- *kohabitacija*

2. diaplacentarno, transovarialno (ptičja gripa)

- prenos preko placente, vendar je odvisno tudi od tipa placente; če se plod okuži lahko žival abortira (zgodnji, pozni)

3. zrak

- aerogene infekcije z zrakom ali *prahom*
- direktne *kapljične* infekcije – direktno kašljanje
- indirektno kapljične infekcije – kapljice padajo na tla in se prenašajo s prahom (TBC, SiP...)
- potrebni so konstantni tokovi vetra in raven relief, da pride do okužbe na večje razdalje- pri nas je taka okužba minimalna (relief!)

4. hrana

- ribja moka, ki se tovari na velike razdalje in pride v Luko Koper

5. voda

- voda je lahko zelo hitro kontaminirana, še posebej stoječe vode
- npr. če bi stresli nekaj mg toksina butulina (Cl. botulinum) v NY v vodovod, bi lahko bilo takoj milijon mrtvih
- pri antraksu so hidrološke razmere krivec, da pridejo spore na površino
- podtalnica se dvigne, spore katapultira iz 3m globine na površino
- trava zraste na njej spore, krava travo poje in zboli
- preventiva: cepljenje na teh področjih
- živali z antraksom ne smemo secirati, ker kri ni strjena in lahko odteče v odtok in tako okužimo zemljo
- vzorec za pregled je kos uhlja

6. zemlja

7. živali, členonožci

- divji mesojedi, ki se hranijo z mrhovino lahko prenesejo tularemijo, miksomatozo
- glodavci-leptospiro
- členonožci-klopni encefalitis, boreliozo, erlihiozo
- mehanski prenos z muhami

8. promet z živalmi, njihovimi proizvodi, surovinami, nomadska paša

- z letom 2006 so ukinjena spričevala
- največji problem so pitališča, ko se nakupi več mladih živali iz različnih rej
- nomadska paša- pri nas tega ni veliko (le na najetih ali svojih travnikih)
- možnost, da ptica okuži drugo z aviarno influenco prek zraka je minimalna (z dihanjem)
- večja je verjetnost okužbe s fecesom

4. VDORNO MESTO INFEKTA

1. **sluznica**; respiratornega trakta, prebavil, urogenitalnega trakta, očesna veznica
 - veliko agensov vstopa na več načinov; npr. virusi, ki napadajo respiratorni trakt-herpes virus-vstopijo preko dihal ali sluznice prebavil; za pljuča večja možnost okužbe: večja površina, potrebna manjša doza]aerogena infekcija, aerosol
 - sluznica prebavil, pogosto nazofarinks-preko njega veliko agensov, ni treba da pride v pljuča]HV, SiP, KPK. Vsak virus pri tem izkorišča svojo pot: takoj za nazofarinksom je živčno tkivo, HV tu vdre. Sip in KPK gre v tonzile]limfatični sistem]kri]viremija
 - urogenitalni trakt: občutljiva sluznica, velika verjetnost za okužbo pri koitusu (z AI zmanjšamo to na minimum, če pregledujemo seme, delamo čisto)]KPK se prenaša tudi z AI
 - očesne veznice: same se redko inficirajo, najpogosteje pri določenih pasmah psov]entropij, lahko kriv ventilator-nečiste roke, maleinizacija
2. **koža**: preko vbodnih ran, prek odrgnin...
 - če je intaktna, je dovolj velika bariera: kisel pH, dlaka, perje
 - manjše praske, poškodbe]vdre povzročitelj, lahko kriva tudi oprema: uzda, sedlo ovratnica
 - najpogostejša okužba je z vbodi; komarji, globoke rane se zunaj zaprejo]anaerobni pogoji: šuštavec, parašuštavec, tetanus
 - kriv veterinar: s cepljenjem, aplikacijo zdravil]če ne menja igle
3. **placenta**
 - je redko vstopišče za infekt, v viremični fazi pride preko nje]abortus v zgodnji fazi
4. **infekcija z neznanim vstopališčem**
 - pri IAK: žuželke+ neznan vstop
 - veliko agensov ima več načinov vstopa
 - herpes virus lahko vstopa skozi respiratorni trakt, prebavila
 - HV vstopi v organizem v ustni votlini do nazofarinxa
 - SiP in KPK]preko tonzil in nato dalje
 - pljuča; lažji kontakt, večja površina, manj je potrebno kot pa pri vstopu skozi prebavila (pH, kislina...)

5. DOVZETNOST ZA OKUŽBO/DISPOZICIJA

- 1.
 2. vrsta živali
 3. pasma
 4. starost
 5. spol
 6. prehrana
 7. način reje
 8. konstitucija
 9. organske bolezni
 10. mehanične poškodbe
 11. transport
 12. prevelika gostota naseljenosti
- dovzetnost ali dispozicija je lastnost živali, da sprejme nek agens in njegovo razmnoževanje, nasprotje je rezistenca ali odpornost
 - direktna škoda]kolikor so vredne živali
 - indirektna škoda]koliko časa še ne bo gojil živali

- SiP- nepotrebno živali krmiti z dodatnimi proteini; to smo ljudje z genetiko sami naredili
- transport predstavlja stres
- infekcijska bolezen lahko povzroči:

- | enzootijo
(endemija) | epizootijo
(epidemija) | panzootijo
(pandemija) |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - ves čas je prisotna, ne izgine, ne zbolijo vsi osebki - sporadični, posamezni primeri | <ul style="list-style-type: none"> - fenomen ledene gore - vedno več se odkriva, ne ve se globina in širina | <ul style="list-style-type: none"> - zajame vse kontinente - krivulja narašča |
-
1. predvsem virusi so vrstno specifični: HV-vsaka **vrsta** ima svojega, le 1 vrsta prehaja med drugimi: Aujetzkii
 - steklina: vse toplokrvne živali
 - SiP- parkljarji, ne pa kopitarji
 2. določene **pasme** so bolj dovzetne-kjer je bila večja selekcija na proizvodnjo: frizijka, šekica, ekstenzivne pasme veliko manj dovzetne—sedaj popravljajo nazaj-iščejo stare gene
 3. **mlade** ali zelo **stare** živali so bolj dovzetne: nerazvit imunski sistem pri mladih-ni Pt, bolj dovzetni za pljučnice, diareje
 4. urogenitalni trakt: **samice**; mastitis, metritis—bolj dovzetne tudi zaradi anatomskih značilnosti
 5. **prehrana** mora biti ustrezna, izenačen obrok, vitamini in minerali; pretirano izkoriščanje živali-slabo
 - BSE-posledica pohlepa po denarju—hranjenje goveda z mesno-kostno moko za nadomestitev proteinov-tehnopatija-rastlinojede se krmi z lastnimi proteini-samo za boljši prirast
 6. ekološka **reja**-manjše okužbe, intenzivna proizvodnja- možnost okužbe se eksponentno viša, gostota živali/km², količina živali/m² v hlevu
 7. , 8.-11. **organske bolezni**: parazitoze - v povezavi z večjo gostoto, premalo površin, stres-najpogosteje problem pri transportu

POJMI

ENZOOTIJA- endemija

- je ves čas prisotna na nekem področju, nikoli ne izgine, nikoli ne zbolijo vse živali, vedno znova se pojavi
- primer1: antraks na antraksovih distriktih-sporadični, posamezni primeri
- primer2: endemični sifilis v Bosni- stalno je določeno št. ljudi nosilcev

EPIZOOTIJA-epidemija

- je velikokrat fenomen ledene gore; npr. BSE- nova epidemija se je začela kazati z vrhom, ni se vedelo koliko osebkov je okuženih na kakšnem področju
 - pri nas naj bi bil BSE sporadičen: ker so ga iskali
 - epizootija se začne, narašča, pade, lahko pade zelo hitro, če pa še kar narašča, se širi na večje področje
- PANZOOTIJA-zajame več držav, kontinentov

PROFILAKSA KUŽNIH BOLEZNI

- metode in ukrepi za zatiranje epizootij
 - ukrepi proti epizootiološkim dejavnikom
1. **UKREPI PROTI PRIMARNIM INFEKCIJAM**
 - **Bolne živali**- veterinarska profilaksa omogoča uničenje bolnih živali
 - a. **uničenje bolnih živali**
 - za ta ukrep se odločimo, če je postavljena točna diagnoza bolezni
 - najbolj učinkovit ukrep, če se začne izvajanje čim prej po izbruhu bolezni in če zajame vse obolele in okužene živali
 - uničenje živali- stamping out, je ukrep, ki se izvaja:
 - o pri zelo kontagioznih boleznih, ki se hitro širijo; nevarnost epizootij, panzootij: SiP, KPK, atipična kokošja kuga, miksomatoza
 - o pri manj kontagioznih boleznih, za katere pa nimamo etiološke terapije (vaccine); APK, kužna ohromelost prašičev
 - o pri zoonozah; TBC, bruceloza, maleus
 - pojmi:
 - *bolna žival*- bolezen je diagnosticirana klinično ali s kakšno diagnostično metodo
 - *sumljiva, da je zbolela*- vse živali v skupini, kjer smo ugotovili bolne, katerih zdravstveno stanje odstopa od normalnega
 - *sumljiva, da je okužena*- vse živali v skupini, kjer smo ugotovili kužno bolezen
 - b. **Izolacija bolnih in sumljivih živali**
 - take živali moramo osamiti tako, da ni možnosti za direkten in indirekten kontakt z zdravimi in sprejemljivimi živalmi
 - izolacija je smiselna kot začetni ukrep, do postavitve dokončne diagnoze
 - izolacija mora trajati najmanj tako dolgo, kot je najdaljša znana inkubacijska doba za bolezen na katero je postavljen sum (SiP-21 dni)
 - ustanova ali prostor za izolacijo se imenuje **KARANTENA**
 - karantena se danes uporablja pri uvozu živali, preverja se stanje živali glede na pogoje uvoza (serološki pregled na Pt proti določenim povzročiteljem)
 2. **UKREPI PRI KLICENOSCIH**
 - jih je izredno težko ugotoviti
 - potrebne so mikrobiološke preiskave, ki dokažejo da je žival navidezno zdrava
 - **inkubacijski klicenosci**: se izolirajo in eventuelno tretirajo terapevtsko; po izbruhu se z njimi postopa kot z bolnimi
 - **rekonvalescentni klicenosci**: izločajo povzročitelja kronično ali celo permanentno; važno je, da jih sistematično odkrivamo in izločamo
 - pesti virusi
 - če se inficirajo v 1./3 brejosti
 - plod se perzistentno inficira (P.I.)
 3. **UKREPI PRI PROIZVOIH BOLNIH ŽIVALI IN KLICENOSCEV**
 - pri pravilno izvajanih ukrepih pri bolnih živalih praviloma ni okuženih proizvodov
 - proizvodi se sterilizirajo ali pasterizirajo (mleko)
 - pomije se ne sme več dajati živalim (KPK)
 - pri zoonozah se proizvodi uničujejo
 4. **UKREPI PRI SUROVINAH BOLNIH ŽIVALI IN KLICENOSCEV**
 - ukrepi so podobni kot pri proizvodih, vendar lažje izvedljivi, ker surovine prenesejo postopke, ki jih živila ne (dezinfekcija s kemikalijami...)

5. UKREPI PRI TRUPLIH POGINULIH ŽIVALI ZARADI KUŽNE BOLEZNI

- transport mora biti opravljen tako, da se povzročitelj med potjo ne raznaša:
 - o prevozno sredstvo mora biti nepropustno za tekočino
 - o prevoz pri SiP in KPK omejen na krajše razdalje
 - o nakladanje in razkladanje mora biti mehanizirano
 - o pri vsakem prevozu mora biti vozilo dezinficirano
- zakopavanje trupel:
 - o epizootiološko je pomembno, da trupla živali čim prej odstranimo
 - o prenehajo biti vir infekcije
 - o zakopati je potrebno dovolj globoko
 - o paziti na podtalnico
- sežiganje trupel:
 - o na grmadah
 - o uporaba tekočega ali trdega goriva
 - o ekološki problemi; emisije plinov, onesnaževanje okolja

Prenatalna oblika in pozni pojav bolezni:

- virus KPK lahko prehaja placento pri breji svinji in okuži plod, okužba pri svinji poteka subklinično
- potek infekcije pri plodu je odvisen od starosti plodu in virulence virusa
- v 1./3 brejosti, če pride do okužbe, pride do abortusa, fetalne smrti, mumifikacije in malformacije
- v 2./3 brejosti se virus v plodu krasno množi, plod pa ne reagira, ker še ni imunokompetenten
- v 3./3 brejosti postane imunokompetenten in že namnožen virus, vendar nanj ne reagira, ker ga smatra za svojega (okuženi v 2./# ne kažejo kl. znakov, izločajo stalno virus, nimajo pa Ig)
- okuženi v 3./3 ima Pt vendar ne moremo ločiti od kolostralnih Ig
- pri okužbi plodu starejšem kot 90 dni pride do rojstva perzistentno okuženih prašičkov
- ti se rodijo na videz zdravi in preživijo nekaj mesecev
- slabo priraščajo, pojavlja se kongenitalni tremor
- te živali igrajo glavno pri širjenju in vzdrževanju okužbe v čredi, saj izločajo virus KPK do svoje smrti

Patoanatomske spremembe:

- krvavitve po epiglotisu, povečane in krvave tonsille
- infarkti po vranici (kronična oblika)
- krvavitve po pelvisu ledvice in celih ledvicah (petehije)
- spremembe po črevesju (butoni pri kronični obliki) počasi je delovala lokalna imunost; vendar je zadnji čas ne diagnosticiramo, ker bolezen ostane le na akutni obliki

Diagnostika KPK

- infekcija:
 - o peroralno (s pomijami v katerih je bilo meso)
 - o z inhalacijo
 - o preko kože
 - o s semenom (okuženi merjasci)
- primerno mesto razmnoževanja virusa:
 - o tonzila
 - o regionalne bezgavke
 - o Primarno viremija – diseminacija virusa po krvi:
 - o Sekundarno nov krog pomnoževanja virusa po organih in drugih tkivih
 - o sek. viremija-ko virus ponovno pride v kri
- kompleksi virus-Pt zamašijo ledvice, te niso sposobne več filtrirati krvi in prihaja do krvavitev
- vzorci za laboratorijsko diagnostiko KPK:
 - o heparinski vzorec krvi (izolirati moramo levkocite – nato PCR ali izolacija virusa; v njih so virusi)
 - o krvni vzorec-serum (za dokaz Ig)
 - o tonzile, vranica (v akutni fazi), ileum (če gre za kronično obliko), mezenterialne bezgavke, ledvica
- Glede na to kaj smo našli lahko določimo v kateri fazi je žival bila
- dokazovanje virusa in virusnega antigena
 - o kriostatske rezine organov: tonzile, ileum

- o z direktno imunofluorescenco ali IP-testom
- o virus se razmnožuje v citoplazmi, jedra morajo ostati prazna?
- izolacija virusa KPK na celicah PK-15
 - o dokazovanje virusa z IF ali IP-testom
 - IF je hitrejši, IP gledamo lahko z navadnim mikroskopom
 - o virus ne povzroča citopatskega efekta
 - o virus je v citoplazmi v ER
- diferencialna diagnostika pestivirusov s specifičnimi monoklonalnimi protitelesi
 - o poliklonalna Ig reagirajo z vsemi pestivirusi
- antigenski test ELISA
 - o dokazovanje Ag iz levkocitov (kronična oblika- če v serumu in organih ni več virusa), seruma, suspenzije organov
- dokazovanje virusnega Ag
 - o z RT-PCR
 - o RT= reverzna transkriptaza potrebna, da RNAvirus prepíšemo v DNA
 - o Pripravimo sekvenčno reakcijo in ustrezna analiza sekvenc (bazni pari)
- serološka diagnostika
 - o dokazovanje nevtralizacijskih Pt:
 - NIF- nevtralizacijski IF test
 - NPLA- nevtralizacijski peroksidazni test
 - VELCIA- celični encimsko imunski test
- z encimsko imunskimi testi:
 - o blocking ELISA
 - o kompetitivna ELISA
 - o kompleks-blocking test ELISA (CTB –ELISA)

Predlog ukrepov za preprečevanje pojava KPK v obdobju po vakcinaciji

- z letom 2001 se je prenehalo cepljenje
- lahko je zelo velika razlika med izolati po virulenci
- visoko virulentni sevi – klinična slika akutna, smrt
- srednje ali nizko virulentni sevi – subakutne, kronične oblike bolezni
- vzorec bi jemali v čredah, ki mejijo na Hrvaško
- monitoring 20% odstreljenih divjih prašičev
- krmljenje s pomijami je strogo prepovedano

Preventivni serološki monitoring:

- določen čas po prenehanju vakcinacije serološkega testa samo v necepljenih čredah
- vzorce v čredah, ki mejijo na Hrvaško
- vzorci pri živalih pred klanjem
- na velikih farmah, ki so zaključene enote, ni smiselno izvajati testiranje

SLINAVKA IN PARKLJEVKA

Picornavirusi

- enovijačna, pozitivno polarna RNA
- goli virusi, relativno stabilni
- virusi pozitivnim genomom RNA:
- DRUŽINA
 - o picornaviridae- SiP, prašičji enterovirusi

- o caliciviridae- mačji calicivirus
- o coronaviridae- koronavirusi
- o arteriviridae- virus konjskega arteritisa
- o flaviviridae- pestivirusi: BVD, KPK, BB (borderska bolezen)
- o togaviridae- virusi konjskega encefalitisa
- RODOVI virusov v družini picornavirid:
 - o aphthovirus- SiP
 - o enterovirus- poliovirus (humani)- otroška paraliza
 - o cardiovirus
 - o rhinovirus- virusi splošnega prehlada pri ljudeh
 - o hepatovirus- hepatitis A(humani)

slinavka in parkljevka

- močno kužna bolezen domačih in divjih prežvekovalcev, pujsov
- sistemsko obolenje, z mehurčki po površini sluznic
- ni visoke smrtnosti med odraslimi živalmi, toda povzroča hude ekonomske izgube
- velik pogin pri mladih živalih-miokarditis

serotipi SiP:

- 7 jih je: O, A, C, South African territories (SAT)-1, SAT-2, SAT-3, Asia
 - o O, A, C: S Amerika, Evropa, Afrika, Azija
 - o SAT 1,2,3: Afrika
 - o Asia: Azija
- Znanih je najmanj 60 podtipov
- Dovzetne vrste živali:
 - o domači prežvekovalci- govedo, bivol, ovce, koze, kamele
 - o divje in eksotične živali- afriški bivol (virus jim trajno ostane v grlu), različne antilope in različne vrste jelenjadi
 - o druge vrste: prašiči
 - o eksperimentalno; kunci, miši, budre
- različni učinki na živali zaradi različne dovzetnosti;
 - o prašiči (gostitelj, ki povečuje širjenje)- izloča do 1000x več virusa kot druge živali z izdihanim zrakom, omogoča širjenje virusa po zraku
 - o govedo (gostitelj, pri katerem se bolezen najprej opazi)- zelo občutljivo za respiratorno infekcijo
 - o ovca (gostitelj, pri katerem se bolezen najdalj vzdržuje)- blaga asimptomatska oblika bolezni, lahko se razširi po čredi preden jo opazimo

Patogeneza:

	<i>prebolevniki</i> (večina)	
Infekcija (inhalacija, ingestija) <i>perzistenca</i>	inkubacijska doba (36h, običajno 3-10 dni)	klinični znaki
	(mesece pri delno imunih)	
infekcijska doza < 10 virusnih delcev	<i>smrt</i> (miokarditis)	

izločanje virusa se začne 1-4 dni preden se pojavijo klinični znaki (pri mladih)

Klinični znaki:

- visoka T_T ; 40-41°C
- mehurčki po sluznicah in svitku parkljev (na svitku pride do vnetja, sezutje parklja)
- šepanje
- infekcija srčne mišice- mlado govedo do 6 mesecev

Epizootiologija:

- faktorji ki vplivajo na hitro širjenje in perzistenco SiP:
 - o antigenska variacija (7 serotipov brez navskrižne zaščite= PLURALITETA VIRUSA-mnogo antigenih variant z omejeno navskrižno reaktivnostjo)
 - o širok krog gostiteljev
 - o nizka infektivna doza, zato se lahko hitro širi
 - o na voljo je velika količina virusa preden se pojavi klinična slika (virus se izloča pred kl. sliko podobno pri pasji kugi!)
 - o pri nekaterih vrstah (ovce) ni nobenih kliničnih znakov, kar omogoča širjenje
 - o perzistentna infekcija pri delno imunih živalih
 - o veliko načinov širjenja virusa (ker je gol virus, je izjemno pomemben pasivni prenos- npr. preko živali)

Preventiva:

- v deželah, kjer je SiP endemičen (stalno pojavlja)
 - o vakcinacija
 - o vakcinacija in klanje živali
- v deželah prostih SiP (S. Amerika, Z Evropa)
 - o preventiva vnosa bolezni
 - o v primeru izbruha;
 - testiranje in klanje
 - vakcinacija okrog žarišča in klanje (da nimamo v reji živali z Ig)
 - vakcinacija okrog žarišča in klanje le bolnih živali (vakcincija je 1X ker je titer zadosti visok za nekaj let)

Diagnostika:

- gojitev na poskusnih laboratorijskih živalih
- v jajčnih embrijih
- v celičnih kulturah – citopatski efekt
- serološka reakcija – reakcija vzorčenja komplemeta (olupljen epitelij aft pošljemo v glicerinu v lab. – RVK metoda s spec. Pt ugotovimo tip virusa)

Zaključki:

- virus SiP je še prisoten v J Ameriki, Afriki, Aziji
- serotip O je še vedno najpogostejši, z izjemo Afrike
- serotip A je najbolj podvržen variacijam
- priporočila za cepne? Ag so ustrezna
- referenčni laboratorij bo nadaljeval s koordinacijo in nadzorom SiP
- če se SIP razširi, je turizem , gospodarstvo.. zaprto
- RNA virusi so dosti bolj podvrženi mutacijam, ker ni preverjanja prepisa
- Za prašiče le monovalentna vakcina, za ostale pa trovalentna

BVD PRI GOVEDU

- največje škode povzročča SiP, sledi goveja kuga, na 3. mestu pa je BVD
- gre za pestivirus
- sodi med flaviviruse, kamor sodi tudi hepatitis C, zato je raziskan
- virus:
 - o sodi med flaviviruse, rod Pestivirus
 - o ima ovojnico
 - o pozitivno polarno enovijačno RNA
 - o na osnovi sprememb na celični kulturi ločimo 2 tipa virusa:
 - necitopatski
 - citopatski (lahko nastane z mutacijo necitopatskega-z vgradnjo proteaze ali ubikvitina iz celice)

patogeneza pri nebrejih, imunokompetentnih živalih

- subklinično
- blaga T_T , levkopenija, padec mlečnosti
- blage erozije po črevesju, diareja, respiratorne motnje
- huda oblika podobno mukozni bolezni

patogeneza pri brejih živalih:

- vsi prej opisani sindromi
- embrionalna smrtnost
- abortusi
- malformacija plodu
- perzistentno inficirana teleta
- če se plod okuži do 80. dneva brejosti, virus zanj ni tujek in rodi se brez prekolostralnih Pt
- videti je zdrav, vendar se mu iz krvi lahko izolira virus
- edini zunanji znak pri njem je, da je dlaka bolj skodrana

razvoj mukozne bolezni pri PI živali:

- dodatna infekcija z antigensko sorodnim virusom, ki je citopatski
- nizka obolevnost
- visoka smrtnost
- visoka T_T

diagnostični postopki:

- izolacija virusa na celični kulturi
- antigenska ELISA
- serologija, VIRUS nevtralizacijska elisa
- PCR (BVD 1, BVD 2)

diagnostični parametri pri PI:

- Količina virusa v krvi
 - Maternalni IG lahko motijo
 - Mlajša teleta od 3. mesecev, gledamo samo s PCR
-
- pregledati je potrebno 5-10% živali na vsake 6 mesecev (serologija)
 - skupni mlečni vzorci (PCR)

Patogeneza:

Odraslo govedo

okužba preide na

brejo kravo

subklinično klinično

			< 10 dni embrio. smrt
		90-160 dni abortus/ anomalije	
blaga	huda	+/-protitelesa, +/-virus	
smrt(trombocitopenija)	160 dni-porod,abortus		normalno tele, protitelesa-imunost
		živali, ki abortirajo, so imunotolerantne in perzistentno inficirane in kot take vir okužbe za:	

STEKLINA-RABIES

- izvor v sanskrtski besedi »rabhas« = biti nasilen
- sinonimi: byssa?, hydrophobia (gre za nezmožnost požiranja, paraliza žrelca-smrt zaradi asfiksije)
- *urbana steklina*-cestni virus po Pasteurju-nosilec infekcije pes ali volk
- *silvatična steklina*-nosilec infekcija lisica ali druge toplokrvne živali
- vakcinalni sevi-virus fixl (po Pasteurju)
- Louis Pasteur:
 - o Uspešna imunizacija psa (1884)
 - o Posušena hrbtenjača kunca-naredil vakcino
 - o Prva uspešna imunizacija človeka (deček Joseph Meister, ki ga je ugriznil stekel pes)

RNA virusi z negativnim polarnim genomom

- vakcinacija uspešna v prvem tednu ugriza (tudi odvisno od mesta ugriza; če je le-to močno ali malo oživčeno, oz. dokler se še virus ni vezal na živčne končiče)
- Rhabdoviridae; sem spadata virus stekline in virus vezikularnega stomatitisa
- Najprej se morajo prevesti v pozitivno polarne, nato pa še v DNA

Struktura virusa stekline:

- oblika puškega naboja
- virusna ovojnica s podaljški na površini (G protein, ki je glavni imunogen)

Replikacija virusa stekline:

- virus se prime na celico z receptorjem

penetrira

se sleče

prevajanje zgodnjih proteinov

tvorba proteinov

sestavljanje

sproščanje iz celice

Razlikovanje genotipov virusa stekline:

- tipizacija z monoklonalnimi protitelesi
- sekveniranje produktov PCR
- ločevanje glede na species (tipični netopirski sevi-netopirji ni nujno da poginejo, ali sesalski sevi)
- če se pokažejo kl. Znaki; taka žival 100% umre

Genotipi virusa stekline:

- *virus stekline-klasičen*
- *lagos virus netopirjev*
- *mokoke virus*
- *duvenhage virus*
- *evropski virus netopirjev-1*
- *evropski virus netopirjev-2*
- *avstralski virus netopirjev*

Izolacija virusa stekline pri netopirjih:

- netopir ni nujno, da te okuži z ugrizom

- ogromne količine virusa izloča z uriniranjem (urinirajo med letom, ustvarja se aerosol in človek to lahko vdihne)

Patogeneza stekline:

- **primarna faza razmnoževanja**
 - o po ugrizu do vnosa okužene sline v muskulaturo
 - o razmnožuje se v mišičnem in subepitelnem tkivu
 - o kontaminacija motornih in senzornih končičev v mišici ali koži
 - o veže se na specifični acetilholinski ali drugi receptor na živčnem končiču
 - o transport virusa po nevronu
 - odvisno od polarnosti mikrotubulov
 - transport od – do + pola = ANTEROGENO ŠIRJENJE
 - transport v obratni smeri pa RETROGRADNO ŠIRJENJE
 - o prenos molekul vzdolž aksona
 - virus stekline vstopi v akson in potuje retrogradno k nukleusu. Pri tem izkorišča t.i. motorna proteina DINEIN in KINEZIN, ki prenašata molekule vzdolž mikrotubulov v aksonu
- **sekundarna faza razmnoževanja**
 - o virusna NK potuje po aksonu CŽS
 - o inkubacijska doba je 14-90 dni do 1 leto
 - o skoraj ni celičnega imunskega odgovora; v tej fazi še možno uspešno postekspozicijsko cepljenje
 - o razvoj virusa v limbičnem sistemu
 - o klinični znaki, ko doseže neokorteks; depresija, koma, zastoj dihanja
 - o v limbični fazi virus potuje centrifugalno po perifernih živcih do adrenalnega korteksa, pankreasa in slinavk
 - o virus se izloča z brstenjem? --> visoka koncentracija virusa v slini

Diagnostika stekline:

- vzorec za preiskavo: Amonov rog - hipokampus (tu so velike količine ganglijskih celic, kjer se virus razmnožuje)
- pri živi živali: odtis kornee (IF-test)

Diagnostične preiskave:

- dokazovanje virusnega Ag
 - o IF-test
 - o Izolacija virusa na celični kulturi
 - o Antigeni test ELISA
 - o PCR
- dokazovanje specifičnih Ig
 - o nevtralizacijski test na celični kulturi: FAVN- fluorescens inhibition virus neutralisation
 - o ELISA- dokaz celokupnih specifičnih IgG
- dokazovanje virusa stekline v možganih
 - o IF-test (imunofluorescentne pikice-kot zvezdno nebo)
 - o Negrijevo telesce (odtis možgan in barvanje po Selersu)-ciklamnovijolični madeži v notranjosti s temno modro strukturo
 - o IF slinske žleze

Peroralna vakcinacija lisic:

- modificirane žive vakcine (SAD 19)
- vektorske vakcine-poksvirus
- letalo za polaganje vab

Cepljenje ljudi:

- preventivno cepljenje- ogrožene kategorije: laboratorijsko osebje, veterinarji, lovci, gozdarji
- postekspozicijsko cepljenje – po ugrizu živali, pozitivne na steklino, po ugrizu neznane živali
- cepivo pripravljeno na diploidni celični kulturi

HERPEVIRUSI

- za okužbo je potrebna izredno velika doza virusa
- navzoči so pri vseh vretenčarjih
- dvovijačna DNA, vsebuje okrog 100 genov
- razvijali so se sočasno s svojim gostiteljem, dobro adaptirani
- virusi z ovojnico
- povzročajo latentne okužbe (virus se skriva in se aktivira ob določeni priložnosti)
- herpesvirusi pri afriškem slonu – fatalna hemoragična bolezen pri azijskem slonu
- herpesvirus pri azijskem slonu – fatalna hemoragična bolezen pri afriškem slonu

Virusi z dvovijačno DNA:

- herpesviridae;
 - o bovini HV 1,2
 - o konjski HV 1,4
 - o prašičji citomegalovirusi (Aujetzki)
 - o virus maligne kataralne mrzlice goveda
- večinoma so vrstno specifični (drugi virusi ne)

Delitev:

- α HV (BHV-1, EHV-1,4, mačji HV, pasji HV)
 - o hitro rastejo
 - o latentna v senzoričnih ganglijih
- β HV
 - o citomegalovirusi
 - o rastejo počasi
 - o latentna v žlezi slinavki, ledvicah, levkocitih
- μ HV (virus maligne kataralne mrzlice)
 - o limfadenitis
 - o latentna v limfoidnem tkivu

Struktura virusa:

- imajo ovojnico, nato tegument, znotraj pa nukleokapsido
- na ovojnici so glikoproteini gB, gC,.....gL

Produktivna in latentna okužba:

- mora priti do izločanja kortikosteroidov (stres), da pride do manifestacije
- odvisno tudi od intenzitete UV žarkov

Replikacija:

- pritrditev na receptor – slajenje – razmnožuje se v jedru gostiteljske celice

Latenca in reaktivacija:

- mora priti do tvorbe kortikosteroidov – reaktivacija
- HV potujejo v glavnem po živcih

Bovini HV

- BHV-1.1 povzročča IBR
- BHV-1.2 IPV
- BHV-1.3 encefalitis
- BHV-2 mamillitis

- BHV-3 Maligna kataralna mrzlica
- BHV-4..... ?

- BHV-1
 - o razširjena oblika pri mladih živalih
 - o abortusi
 - o lezije na genitalijah
 - o encefalitis

Okužba živali:

Krava	Reprodukcija v epitelnih celicah	okužba dovzetne živali
Reaktivacija iz Latentne oblike	replikacija v epit. celicah Uveljavljanje latence	(rinotraheitis)

Sistemsko širjenje virusa

Encefalitis okužba plodu-abortus

Primarne lezije:

- če pride do okužbe, so spremembe po nosu, pustule, razjede [počijo] [virus se raztrosi] potuje po krvi vezan na levkocite
- povzroča povišano T_T (citokini), dispnejo, kašelj

Klinični in imunološki parametri (vzamemo parni serum), da vidimo ali je žival že bila okužena. Z aplikacijo kortikosteroidov lahko izzovemo manifestacijo latentne okužbe – ta ne pride v poštev pri visoko produktivnih živalih, tu delamo izolacijo ali pa PCR.

Diagnostika:

- o IF specifično deluje proti HV infekcijam
- o Po 5. dnevu se začno tvoriti IgM
- o Pozneje še IgG po 10 dnevu
- diagnostika okužb z IBR
 - o izolacija virusa (povzročča CPE na celični kulturi)
 - o IF-test
 - o Imunohistokemija
 - o PCR (dokažemo tudi, če je žival latentno okužena)
 - o Serologija
 - Virus – nevtralizacijski test
 - ELISA
 - o Biki na osemenjevalnih centrih morajo biti prosti herpesvirid

AVIARNA INFLUENCA – AI

- virus je vrstnospecifičen
- 3 vrste virusov influence:
 - o Tip A-okužuje ljudi, ptice, prašiče, konje
 - o Tip B- samo ljudi

- o Tip C- prašiče in ljudi
- **virus influenza A:**
 - o poznanih je 16 H in 9N podtipov (H-vrsta hemaglutinina, N-vrsta nevramidaze – proteina na ovojnici virusa)
 - o spada med Orthomyxoviridae
 - o ima ovojnico
 - o enojno negativno vijačnico RNA
 - o z mutacijami nastanejo nove variante virusa (med drugim tudi H5N1 – lahko zbolijo ljudje, ki so izpostavljeni veliki količini tega virusa)
 - o okužba: virus pogosto mutira – spremembe površinskih antigenov – običajna Pt jih ne prepoznajo – okužba
 - o problem: če bi bili v okolju, kjer krožita 2 različna tipa virusov – okužili z obemi – mutacije – novi sevi, ki se lahko prenašajo iz človeka na človeka – pandemija
- virus se ob stiku veže na celico – celični encimi prekinajo S-S vez – kisela pH – protein N pa omogoči razmik ovojnice in vstop virusa
- prenos okužbe je aerogen – ni mogoče, da bi se ljudje okužili s kontaminiranim prašičjim mesom
- ukrepi ob izbruhu:
 - o v radiu 3km popis vseh ptic, rej in testiranje živali – če se izkaže za pozitivno – poboj
 - o v radiu 10km je kontrola milejša, reje se opazuje

MOLEKULARNA EPIDEMIOLOGIJA

Zajema laboratorijske in analitske postopke za proučevanje NK, ki omogočajo hitro detekcijo in karakterizacijo povzročitelja ter postavitev natančnejše diagnoze.

Laboratorijski postopki zajemajo:

- mikroskopske metode
- metode kultivacije in vitro
- imunološke metode
- molekularne metode

MOLEKULARNE METODE

- *specifično dokazovanje NK:*

o posredne metode

- polimorfizem dolžin restrikcijskih fragmentov- **RFLP**
 - primer MRSA;
 - restrikcijska analiza s SMAI (vrsta restrikcijske endonukleaze) → prenos fragmentov z gela na membrano → hibridizacija s specifično komplementarno sondo
- **hibridizacijske metode**
 - denaturacija ($T > 90^{\circ}\text{C}$) → renaturacija (nižja T) → vijačnici ponovno povežeta → hibrid
- metode pomnoževanja NK- verižna reakcija s polimerazo-**PCR**
 - izolirana DNA + začetni oligonukleotidi + encim termostabilna polimeraza DNA + deoksiribonukleotidi trifosfati (dATP...)- gradniki novih molekul DNA + reakcijski pufer
 - 30-40 ciklov pomnoževanja; denaturacija ($T 90-95^{\circ}\text{C}$) → vezava zač. Oligonukleotidov ($37-60^{\circ}\text{C}$) → sinteza nove molekule DNA ($67-72^{\circ}\text{C}$)
 - Dokazovanje produktov PCR- elektroforeza v agaroznem gelu (+ hibridizacijske metode, PCR v realnem času)
 - o Gel → nanos produktov PCR → elektroforeza → obarvanje gela z EtBr → vizualizacija fragmentov na UV transiluminatorju → prenos in obdelava slike
 - izvajanje PCR:
 - o prostori: ločeni za izvajanje izolacije DNA oz. RNA, pripravo reakcijske mešanice in pomnoževanje in dokazovanje produktov
 - o oprema: vsak prostor svojo, se ne prenaša, čiščenje, UV, rokavice!!!
 - o Usposobljeni ljudje; natančnost pri preračunavanju in pravilni izbiri reagentov, pipetiranju in interpretaciji rezultatov

o neposredne metode

- določanje nukleotidnega zaporedja ali **sekvenčna analiza**
 - urejanje nukleotidnih zaporedij in ugotavljanje variabilnosti s pomočjo uporabe računalniških programov (BLAST, Clustal, Phylip...)

- *primerjava nukleotidnih zaporedij:*

o ugotavljanje sorodnosti

- o filogenetske primerjave zaporedij
- o primerjava virusov;
 - + majhen enostaven genom
 - + velika heterogenost
 - + pogoste mutacije
 - ugotavljanje evolucijske sorodnosti
 - tipizacija sevov
 - ugotavljanje geografske razširjenosti
 - spremljanje širjenja in ugotavljanje izvora

Pomen molekularnih metod:

- hitro dokazovanje povzročitelja
- natančna tipizacija povzročitelja
- ugotavljanje mutacij in nastanka novih variant
- ugotavljanje novih antigenskih determinant
- spremljanje evolucije virusa v času in prostoru
- spremljanje širjenja infekcije
- ugotavljanje izvora infekcije