



## **1. Рамка за оценка на риска за Заразен нодуларен дерматит и Африканска чума по свинете**

Заразният нодуларен дерматит [ЗНД] при говедата и Африканската чума при свинете [АЧС] са вирусни болести по животните, които се разпространяват в международен мащаб и нанасят щети на животновъдството в Европа. ЗНД причинява нодуларни кожни лезии, треска, потенциална обща заболяемост и смърт при някои изложени на риск говеда. АЧС причинява тежко заболяване при прасетата, което води до треска, кръвотечение и бърза смърт на повечето заразени прасета, включително и на дивите свине. Въпреки че вирусите на ЗНД и АЧС не причиняват заболявания при хората, възможностите за контрол на двете заболявания при животните са ограничени. Ето защо идентифицирането и свеждането до минимум на рисковите фактори, свързани със ЗНД и АЧС е от решаващо значение за превенцията на заболяването.

Като част от проекта DEFEND по програма "Хоризонт 2020" на ЕС, Германският федерален изследователски институт за здравеопазване на животните (Институт "Фридрих Льофлер") ръководи работен пакет 1 [WP1] за разработване на рамка за оценка на риска от ЗНД и АЧС. Като първа стъпка, WP1 събра голям спектър от потенциални рискови фактори чрез систематично търсене в бази данни с научна литература. Учените откриха рискови фактори, свързани с вирусите, околната среда, биосигурността, животновъдството, транспорта, мрежите, обществото, наблюдението и рисковите фактори, свързани с отговора при двете заболявания, фактори, свързани с членестоноги, породи говеда, движение на говеда и насекоми, конкретно за ЗНД, както и фактори, свързани с породи свине, движение на свине и продукти от тях и управление на дивата природа и свързани рискови фактори за АЧС.

Идентифицираното портфолио от потенциални рискови фактори ще даде насоки за стратегии за контрол и превенция на ЗНД и АЧС.

## **2. Отвъд границите: ролята на конфликтите и несигурността за разпространението на болести по животните**

През последните 5 години в ЕС и съседните страни избухнаха огнища на много болести по животните, сред които Заразен нодуларен дерматит (ЗНД) и Африканска чума по свинете (АЧС). Възможно е развитието на тези болести да е било улеснено от война или граждански вълнения. Работен пакет 3 на DEFEND "Конфликти, миграция и разпространение на вируси"

изследва дали и как гражданските войни, несигурността, конфликтите и миграцията на хора действат като фактори за появата и разпространението на болести по животните. Специално внимание е отделено на ЗНД и АЧС, като са разгледани и други болести по животните, включително шап и чума по дребните преживни животни.

Целите на изследването са:

- да се генерират надеждни и последователни данни/знания за това как маршрутите и динамиката на миграцията на хора и животни се влияят от конфликти, несигурност и безредици
- да се идентифицират рисковите фактори за разпространение на болести по животните в резултат на промени в моделите на мобилност и търговия, свързани с конфликти
- да се адаптира и тества методология за събиране на данни за появата и разпространението на болести в зони на конфликти

Данни за миграцията на хора и домашни животни ще бъдат събрани чрез проучвания и методологични инструменти с участието на населението, като например Оценка на селските райони с участието на населението и Епидемиология с участието на населението, основани на дискусии във фокус групи, интервюта с ключови информатори, карти с участието на населението и полеви проверки на стратегически точки. Събраните данни ще бъдат обединени с официални данни от системите за уведомяване за болести по животните (ADNS) и миграционни данни, получени от миграционни платформи (MOM, UNDESA, IDMC, UNHCR и др.).

Дейностите ще се съсредоточат в три макрообласти: i) гранични зони в Близкия изток - Сирия/Турция и Сирия/Ливан; ii) гранични зони в Балканския регион; iii) гранични зони между Украйна, Румъния, Молдова и Унгария

### **3. Превенция и управление на Африканската чума по свинете**

Задачата е насочена към рисковите фактори, свързани с предаването на Африканската чума по свинете (АЧС) в стопанствата. Резултатът от задачата се постига чрез обширен литературен преглед на епидемиологичните фактори, свързани с разпространението на АЧС при домашните свине и дивите свине при взаимодействие с домашните свине.

Вирусът на АЧС е силно вирулентен и много устойчив вирус, който засяга както домашните, така и дивите свине.

Като проучихме най-новата литература за разпространението на вируса на АЧС в страните от Източна Европа и в Белгия, установихме критични рискови фактори за предаване на болестта на ниво ферма, обобщени, както следва:

- Движение на животните (пряк контакт между свине). Наличие на заразени диви свине, които могат да пренесат вируса в дивата природа и при домашните свине. Контактите между диви и домашни свине са основен рисков фактор при системите за свободно отглеждане и при отглеждане в задния двор. Умрелите животни остават заразни за дълъг период от време.
- Пренасянето на вируса чрез замърсени с вируса предмети, дрехи и обувки е рисков фактор, свързан с дейността на ловци, берачи на гъби и горски плодове, ветеринарни лекари и

параветеринарни специалисти, движението на превозни средства от и до фермата, както и близостта до кланица или сметище.

При животните отглеждани в заден двор основните рискови фактори са причинени от човека: слаби мерки за биосигурност, незаконно придвижване на заразени свине, хранене с отпадъци и недостатъчно докладване, свързано със "спешни продажби" на заразени свине.

За да се намалят горепосочените рискови фактори, е наложително да се подобрят общите мерки за биосигурност в стопанствата, да се поставят под контрол системите за свободно отглеждане, да се забрани храненето с отпадъци, както и да се насърчи готовността на земеделските стопани и техниците по отношение на всички необходими предпазни мерки, които трябва да предприемат, за да защитят собственото си стадо от заразяване с вируса на АЧС.

#### **4. Усъвършенстване на изследователските инструменти за изследване на неутрализиращите антитела към вируса на Заразния нодуларен дерматит.**

Заразният нодуларен дерматит (ЗНД) е нововъзникваща трансгранична болест с икономическо значение в световен мащаб. Причинителят, вирусът на Заразния нодуларен дерматит (ЗНД) заразява говедата, като причинява системно заболяване, което може да доведе до значителни производствени загуби. Необходими са усъвършенствани лабораторни инструменти, за да се разработят по-добри ваксини и диагностични средства.

Налице са ограничени клетъчни линии за разпространение на вируса на ЗНД, което оказва влияние върху последващите изследователски усилия. Като част от проекта DEFEND по програма "Хоризонт 2020" използвахме клетъчна линия, специфична за гостоприемника, клетки от бъбреците на говедата Madin-Darby (MDBK). Беше доказано, че MDBK клетките са податливи на инфекция с вируса на ЗНД, като образуват отделни плаки от огнищен тип.

Въз основа на тези резултати успяхме да разработим имунофлуоресцентен тест за неутрализиране на вируса (IFVNT) за откриване и количествено определяне на неутрализиращите антитела (nAbs) срещу вируса на ЗНД - ключов компонент на защитния имунитет срещу вируса на ЗНД. Като използва серум от говеда, експериментално инфектирани с вируса на ЗНД и маркиране с флуоресцентно вторично анти тяло, тестът е в състояние точно да открие nAbs в заразени и незаразени животни. Визуализацията на флуоресцентните огнища подобрява чувствителността на анализа, което улеснява интерпретирането на резултатите и полуколичественото определяне на nAbs в говедата през целия период на изследването.

Усъвършенстването на тестовете за откриване на nAbs е от съществено значение за оценката на ефикасността на ваксината срещу вируса на ЗНД. Методите, описани в нашето изследване, предоставят допълнителни инструменти за тази цел и могат да бъдат прилагани във всички изследователски лаборатории за вируса на ЗНД. Като цяло, тези инструменти допринасят за програмите за контрол и превенция на вируса на ЗНД.

## **5. Преглед на рисковите фактори за появата на Африканска чума по свинете в свиневъдството в сценария на Европейския съюз**

През последното десетилетие Африканската чума по свинете (АЧС) излезе от първоначалния си район на ендемичност и се разпространи широко в Европа и Азия. Това развитие на АЧС причини сериозни икономически щети на засегнатите страни, като промени сектора на свиневъдството и търговската мрежа за свинско месо в целия свят. Извършихме литературен преглед, за да идентифицираме рисковите фактори, свързани с влизането на АЧС във фермите.

Най-критичните рискови фактори са:

1. Слаби мерки биосигурност за търговски, нетърговски и открити фермерски системи
2. Системите за свободно отглеждане или отглеждане на открито се считат сами по себе си за критични рискове
3. Контакт със заразени прасета, закупени от заразени райони
4. Контакт с диви прасета, свободно отглеждани прасета или прасета от други ферми
5. Хранене с кухненски остатъци или фуражи от ненадеждни доставчици
6. Контакт със заразени вируса предмети, включително обувки или облекло на фермери, ловци, ветеринарни лекари и параветеринарни специалисти
7. Несъобщаване за симптоматични животни или незаконно клане при спешни случаи в стопанството

Тъй като не е налична ефективна ваксина или терапия за АЧС, всички заинтересовани страни трябва да адаптират своите управленски практики и по-специално мерките за биосигурност, за да избегнат излагането на стопанствата си на тези критични рискове.

## **6. Оценка на риска от замърсяване на околната среда от ползватели на гори в ендемични райони на Африканска чума по свинете**

Африканската чума по свинете (АЧС) засяга различни видове диви и домашни свине и е както екологичен, така и икономически проблем, който причинява големи преки и непреки икономически загуби на свиневъдството. Вирусът може да оцелее за дълъг период от време в околната среда, а хората могат неволно да действат като преносители чрез заразени с вируса предмети, като по този начин допринасят за разпространението на болестта. За да оценим мащаба на този проблем, проведохме симулационно проучване, в което оценихме вероятността от заразяване с АЧС, свързана с различни видове човешки дейности в горите.

Нашето проучване показва, че заразяването на околната среда с АЧС е доста малко вероятно събитие. Когато обаче процесът на заразяване се разшири до цяла година и до големи географски райони, натрупването на едни и същи горски дейности във времето и пространството поражда очакването, че всяка година ще се случват хиляди случаи на

заразяване. Подхранването и ловът на диви свине се очертават като най-рисковите дейности по отношение на вероятността за заразяване.

Рискът от заразяване на околната среда с АЧС не трябва да се пренебрегва при планирането на управленски действия за намаляване на разпространението на АЧС. Допълнителното хранене трябва да бъде силно намалено или избягвано в засегнатите от АЧС райони. Ловът на диви свине като средство за управление и наблюдение следва да бъде внимателно оценен, като се вземат предвид както ползите от него, така и свързаните с него рискове от заразяване. От съществено значение е да се подобрят и приложат строги мерки за биосигурност за всички човешки дейности в горите в ендемичните райони на АЧС.

## **7. Имунен отговор на експериментално контролно заразяване с вируса на ЗНД**

Вирусът на Заразния нодуларен дерматит (вирус на ЗНД) причинява тежко заболяване при говедата и водните биволи и се предава чрез кръвосмучещи членестоноги вектори. Информацията за имунния отговор към вируса на ЗНД е ограничена, което възпрепятства разработването на средства за контрол на болестта.

Експериментално инокулирахме телетата с вируса на ЗНД чрез иглена инокулация или инокулация с членестоноги, като използвахме вирус-положителни вектори *Stomoxys calcitrans* и *Aedes aegypti*. Седем от седемнадесетте телета, инокулирани с игла (41 %) и 8/10 (80 %) от телетата, инокулирани с членестоноги, развиха клинично заболяване, дефинирано като поява на множество кожни лезии.

Установихме променлив специфичен за вируса на ЗНД клетъчно-опосредстван имунен отговор (СМІ) при инокулираните телета, който не се различаваше между клиничните и неклиничните телета. Все пак, отговорът СМІ при телетата, инокулирани с членестоноги, беше много последователен с ясна разлика между клиничните (силен отговор на СМІ) и неклиничните (слаб отговор на СМІ) говеда.

Неутрализиращи антитела срещу вируса на ЗНД бяха открити при всички инокулирани говеда от 5-7 dpi. Силният IgM отговор при неклинично заразените с членестоноги телета предполага, че това е корелат на защитата.

Това проучване разкрива разлики в имунния отговор между клинични и неклинични случаи на ЗНД при говедата и подчертава важността на използването на подходящ модел на предаване. То също така предоставя фундаментални имунологични детайли, които да насочат разработването на нови диагностични тестове и подобрени ваксини за ЗНД.

## **8. Клетъчен и хуморален имунен отговор след имунизация**

Вирусът на Африканската чума по свинете причинява смъртоносно хеморагично заболяване при домашните свине и дивите свине, за което понастоящем няма лицензирана ваксина за употреба в ЕС. Експерименталните ваксини срещу Африканска чума по свинете могат да бъдат разделени най-общо на живи атенюирани ваксини, които са отслабени версии на смъртоносният вирус, или субединични ваксини, подобни на тези, разработени за COVID.

Вирусът на Африканската чума по свинете е сложен патоген, който кодира повече от 150 гена и познанията ни за защитния имунен отговор срещу вируса са ограничени. Това прави технически труден избора на гена или комбинацията от гени, които да бъдат включени в субединична ваксина.

Експериментално инокулирахме прасета с жив атенюиран щам на вируса на Африканската чума по свинете и след това ги подложихме на тест три седмици по-късно с обикновено смъртоносен изолат на вируса. Измервахме имунния отговор към вируса по време на изследванията. Много от прасетата оцеляха след експерименталното контролно заразяване и установихме, че прасетата произвеждат както антитела, така и клетъчно-медиирани имунни отговори към вируса. При свинете от ферми за безпородни животни, способността на CD8 T-клетките, вид имунни клетки, способни да откриват и убиват заразени с вируса клетки, беше най-силно свързана със защитата след заразяване с летален вирус на Африканска чума по свинете.

Разработените за тези проучвания имунни тестове, в комбинация с пробите, събрани от животните, сега ще бъдат използвани за скрининг на над 150 гена на вируса на Африканската чума по свинете, за да се идентифицират потенциално защитни вирусни протеини. Те ще бъдат включени в субединични ваксини и ще бъдат тествани за потенциала им да предпазват свинете от болестта.

## **9. Какво може да ни каже дифузията за Африканската чума по свинете**

Африканската чума по свинете (АЧС) е тежко вирусно заболяване по домашните и дивите свине, което причинява смърт при повечето заразени свине и има огромно социално-икономическо въздействие и въздействие върху хуманното отношение към животните. За да се контролира болестта, е важно да се разбере и предвиди как се разпространява АЧС. Като ръководител на работен пакет 1 в проекта DEFEND на ЕС по програма "Хоризонт 2020", Институтът "Фридрих Льофлер", Федералният изследователски институт за здравеопазване на животните в Германия, наскоро разработи нов подход за оценка на риска от АЧС, който да помогне за предвиждане на разпространението на болестта сред европейските диви свине.

Тъй като няма пряка информация за подробностите относно разпространението на АЧС в популациите от диви свине, епидемиолозите от WP-1 оцениха разпространението на болестта косвено: Учените знаеха на какво разстояние обикновено се намира един открит случай на АЧС от следващия и колко време обикновено минава между два последователни случая. С тези знания те използваха трик, за да генерират голям брой подобни фиктивни модели на избухване на АЧС, като изказали хипотезата, че моделът на ранно разпространение на болестта математически наподобява добре описания процес на дифузия (брауново движение). След това епидемиолозите използваха статистическите показатели, получени от техния модел, за да направят заключения относно скоростта на разпространение на болестта и площта, засегната от АЧС в различни моменти след навлизането на болестта в незасегната преди това популация от диви свине.

И двете оценки, скоростта на разпространение и засегнатата от АЧС площ, са ключови показатели за прогнозиране на начина на разпространение на АЧС. Те могат да помогнат да се

реагира по подходящ начин за борба с болестта или поне за свеждане до минимум на щетите от нея.



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 773701