



1. Cadrul de evaluare a riscurilor pentru dermatoza nodulară contagioasă și pesta porcină africană

Dermatoza nodulară contagioasă [DNC] a bovinelor și pesta porcină africană [PPA] sunt, amândouă, boli virale ale animalelor, cu răspândire internațională, ce produc daune producției de animale din Europa. DNC provoacă leziuni nodulare la nivelul pielii, febră, cu potențial de afectare generală și deces la unele dintre bovinele expuse. PPA provoacă afecțiuni grave la porci, precum febră, hemoragii și decesul rapid a majorității porcilor infectați, inclusiv porci mistreți. Chiar dacă virusurile DNC și PPA nu afectează oamenii, opțiunile de control sunt limitate pentru ambele boli. Prin urmare, identificarea și reducerea factorilor de risc corelați cu DNC și PPA au o importanță critică în prevenirea acestor boli.

Ca parte din proiectul EU Horizon 2020 DEFEND, Institutul Federal German de Cercetare (Friedrich-Loeffler-Institut) conduce pachetul de lucru 1 [WP1] pentru dezvoltarea unui cadru de evaluare a riscurilor pentru DNC și PPA. Ca prim pas, WP1 a adunat o gamă largă de potențiali factori de risc, prin investigarea sistematică a bazelor de date de literatură științifică. Pentru ambele boli, oamenii de știință au identificat factori de risc corelați cu virusuri, mediu, biosecuritate, [sistemele de] creștere, rețeaua de transport, factori societali și corelați cu supravegherea și răspunsul la boli. Pentru DNC, [au fost identificați] factori specifici legați de artropode, rasele de bovine și mișcarea insectelor, iar pentru PPA, factorii corelați cu rasele de porcine, deplasarea porcilor și a produselor de la porcine și de gestionare a faunei sălbatice.

Factorii potențiali de risc identificați cumulați, vor ghida strategiile de control și prevenire a DNC și PPA.

2. Dincolo de granițe: rolul conflictelor și al nesiguranței în răspândirea bolilor animalelor

În decursul ultimilor 5 ani, în UE și țările învecinate, s-au înregistrat epidemii ale mai multor boli ale animalelor, inclusiv dermatoza nodulară contagioasă (DNC) și pesta porcină africană (PPA). Este posibil ca evoluția acestor boli să fi fost facilitată de război sau tulburări civile. Pachetul de lucru 3 al DEFEND - „Conflictele, migrarea și răspândirea virusurilor” investighează dacă și cum războaiele civile, nesiguranța, conflictele și migrarea oamenilor au acționat ca factori favorizanți pentru apariția și răspândirea bolilor animale. Atenția este concentrată în special pe DNC și PPA, dar și pe alte boli ale animalelor, inclusiv febra aftoasă și pesta micilor rumegătoare.

Obiectivele cercetării sunt:

- generarea unor date/cunoștințe valide și consistente despre modul în care rutele și dinamica de migrare a oamenilor și animalelor sunt afectate de conflicte, nesiguranță și tulburări [civile/sociale].
- identificarea factorilor de risc de răspândire a bolilor animalelor care sunt corelați cu modificările tiparelor de mobilitate și comerț legate de conflicte
- să întocmească și testeze o metodologie adaptată pentru colectarea de date despre apariția și răspândirea bolilor în zonele de conflict

Datele despre migrarea oamenilor și a animalelor domestice vor fi colectate cu ajutorul sondajelor și instrumentelor metodologice participative, precum Evaluările rurale participative și Epidemiologia participativă, bazate pe discuții în grupuri tematice, interviuri cu furnizori importanți de informații, hărți participative și inspecții în puncte strategice din teren. Datele colectate vor fi fuzionate cu datele oficiale din Sistemele de notificare a bolilor animalelor (ADNS) și datele despre migrare obținute de pe platformele de migrare (IOM, UNDESA, IDMC, UNHCR etc.).

Activitățile vor fi concentrate pe trei zone principale: i) zonele de graniță din Orientul Mijlociu - Siria/Turcia și Siria/Liban; ii) zonele de graniță din regiunea balcanică; iii) zonele de graniță dintre Ucraina, România, R. Moldova și Ungaria

3. Prevenirea și managementul pestei porcine africane

Această sarcină se concentrează pe factorii de risc asociați cu transmiterea pestei porcine africane (PPA) la nivel de fermă. Tema este realizată printr-o trecere generală în revistă a literaturii referitoare la factorii epidemiologici favorizanți principali, relevanți pentru răspândirea PPA la porcii domestici și mistreți, la interfața cu porcii domestici.

VPPA [virusul pestei porcine africane] este un virus agresiv, foarte rezistent, care afectează atât porcii domestici, cât și porcii mistreți.

În căutarea celei mai recente referințe din literatura privitoare la răspândirea VPPA în țările est-europene și Belgia, am identificat factori de risc critici pentru transmiterea bolii la nivel de fermă, ce pot fi rezumați după cum urmează:

- Mișcarea animalelor (contactul de la un animal la altul). Prezența porcilor mistreți infectați poate transmite virusul la porci mistreți și porci domestici. Contactul între porci mistreți și domestici este un factor de risc major în sistemele în care animalele sunt ținute în libertate și în sectorul gospodăriilor populației. Animalele moarte rămân contagioase o lungă perioadă de timp.
- Transportarea virusului pe materiale infectate, îmbrăcăminte și încălțăminte este un factor de risc corelat cu activitățile vânătorilor, ale culegătorilor de ciuperci și fructe de pădure, ale medicilor veterinari și ale paraveterinarilor, cu deplasarea vehiculelor de la- și către fermă, precum și de apropierea de un abator sau de o groapă de gunoi.
- În sectorul animalelor crescute în gospodăriile populației, factorii de risc principali sunt cei induși de om: măsuri de biosecuritate reduse, transportul ilegal al porcilor infectați, hrănirea cu resturi alimentare și subraportarea legată de „ieftinirile de urgență” ale porcilor infectați.

În vederea diminuării factorilor de risc de mai sus, este imperativ să se amelioreze măsurile generale de biosecuritate la fermă, să se țină sub control sistemele de ceștere a animalelor în libertate, să se interzică furajarea cu resturi alimentare și, de asemenea, să se încurajeze pregătirea fermierilor și

tehnicienilor cu privire la toate măsurile de precauție, pe care este necesar să le adopte, ca să protejeze efectivele împotriva transmiterii VPPA.

4. Îmbunătățirea instrumentelor de cercetare pentru studierea anticorpilor neutralizanți ai virusului dermatozei nodulare contagioase.

Dermatoza nodulară contagioasă (DNC) este o boală emergentă, transfrontalieră, mondială, cu importanță economică. Agentul cauzal, virusul dermatozei nodulare contagioase (VDNC), infectează bovinele, cauzând afecțiuni sistemice care pot provoca pierderi substanțiale de producție. Sunt necesare instrumente de laborator îmbunătățite pentru dezvoltarea unor vaccinuri și instrumente de diagnostic mai bune.

Pentru propagarea VDNC sunt disponibile linii de celule limitate, ceea ce are un impact asupra viitoarelor eforturi de cercetare. În cadrul proiectului Horizon 2020 DEFEND am folosit o linie de celule specifică gazdei, celule de rinichi de bovină Madin-Darby (MDBK). Celulele MDBK s-au dovedit susceptibile la infecția cu VDNC, formând plăci distincte de tip focare.

Din aceste rezultate, am reușit să dezvoltăm un test de neutralizare a virusului prin imunofluorescență (TNVIF) pentru detectarea și cuantificarea anticorpilor neutralizanți ai VDNC (nAbs) - o componentă cheie a imunității de protecție împotriva VDNC. Prin folosirea serului de la bovine infectate experimental cu VDNC și etichetarea cu un anticorp secundar fluorescent, testul a putut detecta cu precizie nAbs la animalele infectate și neinfectate. Vizualizarea focarelor fluorescente a îmbunătățit sensibilitatea testului, facilitând interpretarea rezultatelor și semi-cuantificarea nAbs la bovine pe durata perioadei de studiu.

Îmbunătățirea testelor pentru detectarea nAbs este esențială pentru evaluarea eficienței vaccinului împotriva VDNC. Metodele descrise în cercetarea noastră furnizează instrumente suplimentare în acest scop și pot fi implementate în laboratoarele de cercetare a VDNC. În general, aceste instrumente contribuie la programele de control și prevenire a DNC.

5. O revizuire a factorilor de risc de infectare cu pesta porcină africană în creșterea porcinelor în contextul Uniunii Europene

În timpul ultimului deceniu, pesta porcină africană (PPA) s-a desprins de zona originală endemică și s-a răspândit mult în toată Europa și Asia. Această evoluție a PPA a provocat daune economice grave în țările afectate, remodelând sectorul fermelor de porci și rețeaua de comercializare a porcinelor și a produselor de la acestea din întreaga lume. Am realizat o revizuire a literaturii în încercarea de identificare a factorilor de risc corelați cu apariția PPA în ferme.

Cei mai critici factori de risc au fost:

1. Măsuri de biosecuritate reduse pentru sistemele de creștere comerciale, necomerciale și în aer liber
2. Sistemele de creștere a animalelor în libertate sau în aer liber sunt considerate factori de risc

3. Contactul cu porcii infectați achiziționați din zone infectate
4. Contactul cu porci mistreți, porci crescuți în libertate sau porci de la alte ferme
5. Furajarea cu resturi alimentare sau furaje de la vânzătorii care nu sunt de încredere
6. Contactul cu materiale contaminate, inclusiv încălțămintea sau îmbrăcămintea fermierilor, vânătorilor, medicilor veterinari și a paraveterinarilor
7. Deficiențe de raportare a animalelor simptomatice sau tăierea ilegală de urgență la fermă

Deoarece nu există niciun vaccin sau tratament disponibile împotriva PPA, toți factorii implicați trebuie să-și adapteze specific practicile de management, în special măsurile de biosecuritate, pentru a evita expunerea fermelor la aceste riscuri critice.

6. Estimarea riscului de contaminare a mediului de către utilizatorii pădurilor din zonele endemice pentru PPA

Pesta porcină africană (PPA) afectează diferite specii de suine sălbatice și domestice, și este o problemă ecologică și economică, ce provoacă mari pierderi economice directe și indirecte în industria porcină. Virusul poate supraviețui perioade lungi de timp în mediu, iar oamenii pot acționa neintenționat ca vectori prin materialele infectate, contribuind astfel la răspândirea bolii. Pentru evaluarea extinderii acestei probleme, am derulat un studiu de simulare, în care am estimat probabilitatea de contaminare cu PPA corelată cu diferite tipuri de activități forestiere ale oamenilor.

Studiul nostru a arătat că o contaminare a mediului cu PPA este un eveniment mai degrabă improbabil. Totuși, atunci când am extins [studiul despre] procesul de contaminare la un an întreg și pe zone geografice mari, acumularea aceluiași activități forestiere în timp și spațiu, a dus la anticiparea [faptului] că, în fiecare an, s-ar putea ivi mii de evenimente de contaminare. Referitor la probabilitățile de contaminare, hrănirea suplimentară a mistreților și vânarea porcilor sălbatici au apărut ca fiind cele mai riscante activități

Riscul de contaminare a mediului cu PPA nu trebuie trecut cu vederea în timpul planificării acțiunilor de management în vederea reducerii circulației PPA. Hrănirea suplimentară trebuie redusă drastic sau evitată în zonele afectate cu PPA. Vânarea porcilor sălbatici ca instrument de management și supraveghere trebuie evaluată cu atenție, ținându-se cont de beneficiile și riscurile de contaminare cu care sunt corelate. Este esențial să se îmbunătățească și să se impună aplicarea de măsuri de biosecuritate stricte la toate activitățile forestiere umane în zonele endemice de PPA.

7. Răspunsul imun la provocarea experimentală VDNC

Virusul dermatozei nodulare contagioase (VDNC) provoacă afecțiuni grave la bovine și bivoli de apă, și este transmis prin vectori artropode hematofage. Informațiile despre răspunsul imun la VDNC sunt limitate, ceea ce împiedică dezvoltarea de instrumente de control al bolii.

Am inoculat experimental viței cu VDNC, fie prin inoculare cu ac, fie cu artropode, folosind ca vectori *Stomoxys calcitrans* și *Aedes aegypti* pozitivi la virus. Șapte din șaptesprezece viței inoculați cu ac (41%) și 8/10 dintre vițelii inoculați cu artropode (80%) au dezvoltat afecțiunea clinică, manifestată prin leziuni cutanate multiple.

La vițeii inoculați cu ac, am constatat un răspuns specific imun mediat celular (CMI) variabil pentru VDNC, care nu permitea deosebirea între vițeii cu și fără semne clinice. Cu toate acestea, răspunsul CMI pentru vițeii inoculați cu artropode a fost foarte consistent, cu o diferență clară între bovinele cu semne clinice (cu răspuns CMI puternic) cele fără semne clinice (cu răspuns CMI slab).

Au fost detectați anticorpi neutralizanți împotriva VDNC la toți vițeii inoculați între 5-7 dpi. Un răspuns IgM puternic la vițeii fără semne clinice inoculați cu artropode sugerează că acest fapt este corelat cu protecția.

Acest studiu indică diferențele de răspuns imun între bovinele cu și fără semne clinice de VDNC și evidențiază importanța utilizării unui model de transmitere relevant. Furnizează, de asemenea, detalii imunologice fundamentale pentru direcționarea dezvoltării de noi teste de diagnostic și vaccinuri îmbunătățite împotriva DNC.

8. Răspunsurile imune celulare și umorale după imunizare

Virusul pestei porcine africane provoacă afecțiuni hemoragice letale la porcii domestici și porcii mistreți, pentru care nu există momentan niciun vaccin aprobat pentru utilizare în UE. Vaccinurile experimentale împotriva pestei porcine africane pot fi împărțite, în genere, în vaccinuri vii atenuate, care reprezintă versiuni atenuate ale virusului letal, sau vaccinuri subunitare [/pe bază de proteină/accelulare <https://www.covid19infovaccines.com/ro-posts/cum-functioneaza-vaccinurile-pe-baza-de-proteina>], similare cu cele dezvoltate împotriva COVID. Virusul pestei porcine africane este un patogen complex care codifică peste 150 de gene și cunoștințele noastre despre răspunsul imunitar de protecție împotriva virusului sunt limitate. Acest lucru face ca selectarea unei gene sau a unei combinații de gene pentru includerea într-un vaccin subunitar să fie tehnic problematică.

Am inoculat experimental porci cu o tulpină vie atenuată a virusului pestei porcine africane, iar după trei săptămâni am încercat un izolat letal al virusului. Am măsurat răspunsurile imune la virus pe parcursul studiilor. Majoritatea porcilor au supraviețuit infectării experimentale și am constatat că porcii au produs atât anticorpi, cât și răspunsuri imune la virus mediate celular. În fermele de porci rezultați din încrucișarea unor animale care nu sunt înrudite apropiat [„outbred” <https://www.collinsdictionary.com/dictionary/english/outbred>], capacitatea celulelor T CD8, un tip de celulă imună capabilă să detecteze și săucidă celulele infectate cu virus, a fost mai puternic corelată cu protecția după infectarea experimentală cu virusul letal al pestei porcine africane.

Testele imunologice dezvoltate pentru aceste studii, împreună cu probele colectate de la animale, vor fi folosite acum pentru examinarea celor peste 150 de gene ale virusului de pestă porcină africană, în vederea identificării unor proteine virale cu potențial de protecție. Acestea vor fi încorporate în vaccinuri subunitare și testate în vederea evaluării potențialului de protejare a porcilor împotriva bolii.

9. Ce ne poate indica difuzia despre pesta porcină africană

Pesta porcină africană (PPA) este o boală virală gravă a porcilor domestici și a mistreților, care provoacă decesul majorității porcilor infectați și are un important impact socio-economic și asupra bunăstării animalelor. Pentru controlul bolii, este important să înțelegem și să anticipăm modul în care se răspândește PPA. În calitate de lider al Pachetului de lucru 1 din proiectul UE Horizon 2020

DEFEND, Institutul Friedrich-Loeffler, Institutul Federal German de Cercetare pentru Sănătatea Animalelor, a dezvoltat de curând o nouă abordare a evaluării riscurilor pentru PPA, pentru a înlesni anticiparea răspândirii acesteia la mistreții din Europa.

Deoarece nu există informații detaliate directe despre răspândirea PPA în cadrul populațiilor de mistreți, epidemiologii din WP-1 au estimat o răspândire indirectă a bolii. Oamenii de știință știau cât de departe apare de obicei un caz constatat de PPA față de următorul caz și cât timp trecea în mod normal între două cazuri succesive. Cu ajutorul acestor cunoștințe, au folosit un truc pentru a genera un număr mare de modele similare fictive de focare de PPA, emițând ipoteza că modelul răspândirii timpurii se aseamănă matematic cu procesul bine cunoscut de difuzie (mișcare browniană). Epidemiologii au folosit apoi măsurători statistice derivate din modelul lor, pentru a trage concluzii despre viteza de răspândire a bolii și zona afectată de PPA în diferite momente ulterioare introducerii bolii într-o populație de mistreți ce nu fusese afectată înainte.

Ambele estimări, viteza de răspândire și zona afectată cu PPA, sunt date metrice-cheie [utile] pentru a anticipa cum se răspândește PPA. Acestea pot facilita [să se formuleze] un răspuns adecvat pentru controlul bolii sau cel puțin să se diminueze daunele.



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