



1. Yumrulu Deri Hastalığı ve Afrika Domuz Ateşi İçin Risk Değerlendirmesi Çerçevesi

Sığırlardaki Yumrulu Deri Hastalığı [LSD] ve domuzlardaki Afrika Domuz Ateşi [ASF], uluslararası yayılan ve Avrupa'da çiftlik hayvanlarının üretimine zarar veren hastalıklardır. LSD, hastalığa maruz kalan sığırlarda nodüler deri yaraları, ateş, generalize hastalık ve bazı hayvanlarda ise ölüme neden olmaktadır. ASF, domuzlarda şiddetli bir hastalıkla başlayan ve ateş, kan damarlarında sızıntı ve infekte olan domuzların (yaban domuzu dahil) çoğunda ani ölümlere seyeden bir hastalıktır. LSD ve ASF virüsleri insanlarda hastalığa neden olmaz fakat hayvanlarda her iki hastalığın kontrolü zordur. Bu nedenle, LSD ve ASF ile ilişkili risk faktörlerinin tanımlanması ve riskin azaltılması hastalığın önlenmesinde kritik önem taşımaktadır.

EU Horizon 2020 DEFEND projesi kapsamında, Hayvan Sağlığına Yönelik Alman Federal Araştırma Enstitüsü (Friedrich-Loeffler-Institut), LSD ve ASF için risk değerlendirme çerçevesi geliştirmek amacıyla çalışma paketi 1'i [WP1] yönetmektedir. İlk adım olarak WP1, bilimsel literatür veritabanlarının sistematik olarak araştırılması yoluyla geniş bir spektrumda potansiyel risk faktörlerini bir araya getirmiştir. Bilim insanları her iki hastalık için virus, ortam, biyüvenlik, hayvancılık, nakliye, iletişim ağları, toplum, gözetim ve hastalık yanıtı ile ilgili risk faktörlerini tespit ederken, spesifik olarak LSD için artropod, sığırlar, sığır ve insekt-vektör hareketleri ile ilgili faktörleri ve spesifik olarak ASF içinse domuzlar, domuz ve domuz ürünü hareketleri ve vahşi yaşam yönetimi ile ilgili faktörleri tespit etmişlerdir.

Tanımlanan potansiyel risk faktörleri portföyü, LSD ve ASF için kontrol ve önleme stratejilerine yön vermede yardımcı olacaktır.

2. Sınırların ötesinde: Hayvan hastalıklarının yayılmasında uyumsuzluk-çatışmaların ve güvensizliğin rolü

AB ve komşu ülkelerde son 5 yıldır Yumrulu Deri Hastalığı (LSD) ve Afrika Domuz Ateşi (ASF) de dahil olmak üzere birçok hayvan hastalığının salgınları oluşmuştur. Savaşlar ve toplumsal huzursuzluk-karışıklık bu hastalıkların ilerlemesini kolaylaştırmış olabilir. "Çatışma, göç ve virus yayılımı" başlıklı DEFEND Çalışma Paketi 3'te iç savaş, güvensizlik, çatışma ve insan göçü gibi unsurların, hayvan hastalıklarının ortaya çıkışında ve yayılımında etken olup olmadıkları ve/veya nasıl bir işlev gördükleri araştırılmaktadır. Projede özellikle LSD ve ASF değerlendirilmiş fakat şap hastalığı (foot and mouth disease) ve koyun-keçi vebası (peste des petits ruminants) dahil diğer hayvan hastalıkları da değerlendirme açısından dikkate alınmıştır.

Araştırmanın amaçları şunlardır:

- İnsan ve hayvan göç yollarının ve dinamiklerinin çatışma, güvensizlik ve uyumsuzluk-huzursuzluk durumlarından nasıl etkilendiği konusunda sağlam ve tutarlı veriler/bilgi birikimi oluşturmak
- Mobilite ve ticaret modellerindeki çatışmayla ilişkili değişiklikler bakımından hayvan hastalıklarının yayılımına ilişkin risk faktörlerini tanımlamak
- Çatışma bölgelerinde hastalığın ortaya çıkışı ve yayılması hakkında veri toplamaya yönelik bir metod geliştirmek ve bu metodu test etmek

İnsan ve evcil hayvan hareketleri-göçüyle ilgili veriler toplanırken çekirdek grupların tartışmalarına, önemli bilgi kaynaklarıyla yapılan görüşmelere, katılımcı haritalarına ve stratejik noktaların saha denetlemesine dayalı Katılımcı Epidemiyoloji ve Katılımcı Kırsal Değerlendirmeler gibi katılımcı metodolojik araçlar ve anketler kullanılacaktır. Toplanan veriler, Hayvan Hastalıkları Bildirim Sistemleri'nden (Animal Disease Notification Systems-ADNS) gelen resmi veriler ve göç platformlarından (IOM, UNDESA, IDMC, UNHCR vs.) elde edilen göç verileri ile birleştirilecektir.

Faaliyetlerin merkezinde aşağıdaki üç makro alan yer alacaktır: i) Orta Doğu-Suriye/Türkiye ve Suriye/Lübnan sınırları; ii) Balkan bölgesindeki sınırlar; iii) Ukrayna, Romanya, Moldova ve Macaristan arasındaki sınırlar

3. Afrika Domuz Ateşi'nin önlenmesi ve yönetimi

Faliyetlerin merkezinde, Afrika Domuz Ateşi (ASF) hastalığının çiftlik düzeyinde bulaşmasıyla ilişkili risk faktörleri yer almaktadır. Faliyetlerin sonucuna, evcil domuz ve yaban domuzu (evcil domuzlar ile ara bağı olan) popülasyonunda ASF'nin yayılımıyla ilgili epidemiyolojik etmenler üzerine yapılan kapsamlı bir literatür değerlendirmesiyle ulaşıldı.

ASFV, hem evcil domuzları hem de yaban domuzlarını etkileyen yüksek düzeyde öldürücü (virulan) ve oldukça dirençli bir virusdur.

ASFV'nin doğu Avrupa Ülkeleri'ne ve Belçika'ya yayılması ile ilgili en güncel literatürde arama yaparak çiftlik düzeyinde hastalık bulaşımı açısından aşağıda özetlediğimiz kritik risk faktörleri tanımlandı:

- Hayvan hareketleri (domuzlar arasında yakın temas). Hem yaban domuzlarına hem de evcil domuzlara virus bulaştırabilen infekte yaban domuzlarının varlığı. Yaban domuzu ile domuz arası temaslar, serbest gezen hayvan sistemlerinde ve küçük aile-halk elindeki çiftliklerde başlıca risk faktörüdür. Ölü hayvanlar uzun bir süre bulaştırıcı olarak kalmaktadır.
- Virusun araç ve gereçler, giysiler ve ayakkabılar üzerinde taşınması avcılarının, mantar ve meyve toplayıcılarının, Veteriner Hekimlerin ve teknik elemanların faaliyetleriyle, çiftliğe gelip giden araçlarla ve mezbahaya veya atık alanına yakınlıkla ilişkili risk faktörleridir.
- Küçük aile-halk elindeki çiftliklerdeki risk faktörleri genellikle insan kaynaklıdır: yetersiz biyogüvenlik önlemleri, infekte domuzların kaçak yollarla taşınması, domuz yemleri ve infekte domuzların "acil durum satışlarına" ilişkin eksik raporlamalar.

Yukarıdaki risk faktörlerini hafifletmek için çiftlik alanlarında genel biyogüvenlik önlemlerinin iyileştirilmesi, serbest gezen hayvan sistemlerinin kontrol altına alınması ve domuz yemi kullanımının yasaklanması ve bunların yanı sıra çiftçilerin ve teknisyenlerin kendi sürülerini ASFV bulaşmasından koruyacak gerekli önleyici tedbirleri uygulamaya teşvik edilmesi zorunluluğu.

4. Yumrulu Deri Hastalığı virusuna karşı nötralizan antikorların varlığını incelemeye yönelik araştırma araçlarının iyileştirilmesi

Yumrulu Deri Hastalığı (LSD), salgınlar oluşturan ve ekonomik önem arz eden küresel bir sınır ötesi hastalıktır. Hastalığa neden olan ajan (yumrulu deri hastalığı virusu, LSDV), sığırları infekte ederek ciddi üretim kayıplarına yol açabilecek sistemik hastalığa neden olmaktadır. Daha etkili aşılar ve tanı araçları geliştirmek için iyileştirilmiş laboratuvar ve sistemlere gerek vardır.

LSDV'yi üretmek için kullanılabilen hücre hatlarının sınırlı oluşu, ilerdeki araştırma çabalarını etkilemektedir. Horizon 2020 DEFEND projesi kapsamında konağa özgü hücre dizisi olan Madin-Darby sığır böbrek (MDBK) hücreleri kullanıldı. MDBK hücrelerinin, LSDV için özel plaklar oluşumu ve LSDV enfeksiyonuna izin verdiği gösterilmiştir.

Bu sonuçlar yardımıyla, koruyucu LSDV bağışıklığı için temel olan LSDV nötralizan antikorların (nAbs) saptanmasına ve ölçümüne yönelik bir immünofloresan virus nötralizasyon testi (IFVNT) geliştirildi. Deneysel olarak LSDV ile infekte edilmiş sığırdan alınan serumlar ve floresan işaretli sekonder antikor ile yapılan testlerde, infekte olmuş ve olmamış hayvanlardaki nötralizan antikorların (nAbs) düzeyi doğrulukla saptanabildi. Floresan odaklarının görüntülenmesi, tayinin duyarlılığını artırarak sonuçların yorumlanmasını kolaylaştırmış ve çalışma dönemi süresince sığırlarda semikantitatif nAbs ölçümünü sağlamıştır.

nAbs saptanmasına yönelik testlerin iyileştirilmesi, LSDV'ye karşı aşı etkinliğinin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Araştırmamızda açıklanan yöntemler, bu amaca yönelik ek araçlar sağlamaktadır ve bu yöntemler LSDV araştırma laboratuvarlarında uygulamaya geçirilebilir. Genel olarak bu araçlar, LSD kontrol ve önleme programlarına katkı sağlar.

5. Avrupa Birliği Senaryosu kapsamında, Domuz Yetiştiriciliğinde Afrika Domuz Ateşi İstilasına İlişkin Risk Faktörlerinin İncelenmesi

Son on yıl içinde Afrika Domuz Ateşi (ASF), orijinal endemik alanından ayrılarak Avrupa'ya ve Asya'ya geniş çapta yayılmıştır. ASF'nin evrimi, etkilenen ülkelerde ciddi ekonomik zararlara neden olarak tüm dünyada domuz yetiştiriciliği sektörünü ve ticari domuz eti ağını yeniden şekillendirmiştir. ASF'nin çiftliklere girişiyle ilişkili risk faktörlerini tanımlamak için literatür incelemesi yapıldı.

En kritik risk faktörleri şunlardır:

1. Ticari ve ticari olmayan ve dış mekan çiftlik sistemleri için yetersiz biyogüvenlik önemleri
2. Serbest gezen veya dış mekan çiftlik sistemleri kendi başına kritik risk olarak değerlendirilir
3. İnfeksiyon görülen yerlerden satın alınan enfeksiyonlu domuzlar ile temas
4. Yaban domuzları, serbest gezen domuzlar veya diğer çiftliklerden gelen domuzlar ile temas
5. Yemek artıklarının veya güvenilirmez satıcılardan alınan yemlerin yedirilmesi
6. Çiftçi, avcı, Veteriner Hekim ve teknik elemanların ayakkabı ve giysileri de dahil olmak üzere kontamine olmuş araç ve gereçlerle temas

7. Semptomatik hayvanların rapor edilmemesi veya çiftlikte yapılan acil kaçak hayvan kesimleri

ASF için henüz etkili bir aşı veya tedavi mevcut olmadığından tüm paydaşlar, çiftliklerinin bu kritik risklere maruz kalmasını önlemek için kendi yönetim uygulamalarını ve özellikle de biyogüvenlik önlemlerini tasarlamalıdır.

6. Afrika Domuz Ateşi endemik alanlarında orman kullanıcılarının çevresel kontaminasyon riski hesaplanmalıdır

Farklı yabani ve evcil domuz (suidae) türlerini etkileyen Afrika Domuz Ateşi (ASF), hem ekolojik hem de domuzculuk sektöründe doğrudan ve dolaylı ekonomik kayıplara neden olan ekonomik bir konudur. Virus dış ortamlarda uzun süre canlı kalabilir ve insanlar, infekte olmuş araç ve gereçler sayesinde farkında olmadan taşıyıcı rolü oynar ve hastalığın yayılmasına katkıda bulunabilir. Bu projede, bu sorunun büyüklüğünü değerlendirmek amacıyla bir simülasyon çalışması yapıldı ve çeşitli orman faaliyetleriyle ilgilenen insanların ASF kontaminasyonu olasılığı hesaplandı.

Çalışmamız, ASF çevre kontaminasyonunun epeyce olasılık dışı olduğunu göstermiştir.

Kontaminasyon işleminin ölçeğini büyüterek yılın tamamına ve geniş coğrafi alanlara yaydığımızda ise aynı orman faaliyetlerinin zaman ve mekan olarak birikimi, her yıl binlerce kontaminasyon olgusunun meydana geleceği beklentisini doğurmuştur. Yaban domuzlarına yem takviyesi yapılması ve avcılık, kontaminasyon olasılığı açısından en riskli faaliyetler arasındadır.

ASF sirkülasyonunu azaltmaya yönelik yönetim faaliyetleri planlanırken ASF'nin çevresel kontaminasyon riski ihmal edilmemelidir. ASF'den etkilenen alanlarda yem takviyesi azaltılmalı veya tamamen kaçınılmalıdır. Yönetim ve surveyans aracı olarak yaban domuzu avcılığının, hem faydaları hem de ilişkili kontaminasyon riskleri göz önünde bulundurularak dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir. ASF'nin endemik olduğu bölgelerde bulunan orman alanlarında tüm insan faaliyetleri için sıkı biyogüvenlik önlemleri uygulamak ve bunları iyileştirmek gerekir.

7. Deneysel LSDV infeksiyonuna karşı bağışıklık yanıtı

Yumrulu Deri Hastalığı Virus (LSDV), sığırlarda ve mandalarda ağır seyirli hastalığa neden olur ve kanla beslenen taşıyıcı arthropod vektörler tarafından bulaştırılır. LSDV'ye karşı oluşan bağışıklık hakkında bilgiler sınırlıdır ve bu durum hastalığı kontrol etmeye yönelik araçlar geliştirmeyi güçleştirmektedir.

Virus barındıran *Stomoxys calcitrans* ve *Aedes aegypti* vektörlerini kullanarak gerek iğne inokülasyonu gerekse vektörlerle inokülasyon vasıtasıyla buzağılara deneysel olarak LSDV inoküle ettik. İğneyle inoküle edilen on yedi buzağıdan yedisi (%41) ve vektörlerle inoküle edilen buzağuların 8/10'unun (%80), çoklu deri lezyonu (multipl kutanöz lezyon) oluşumu olarak tanımlanan klinik hastalık geliştirdiği görüldü.

İğneyle inoküle edilen buzağılarda, klinik belirtis gösteren ve göstermeyen buzağular arasında ayırt edilmesi olanaksız, değişken düzeyde LSDV'ye özgü hücresel bağışıklık (cell mediated immunity-CMI) yanıtı saptandı. Bununla birlikte, vektörlerle inoküle edilen buzağılarda CMI yanıtı son derece tutarlı olup, klinik belirti gösteren sığırlarda güçlü net bir hücresel (CMI) yanıt oluşurken klinik belirti göstermeyen sığırlarda zayıf bir hücresel (CMI) yanıt oluştuğu saptandı.

LSDV'ye karşı oluşan nötralizan antikorlar, inokülasyon uygulanan tüm sığırlarda inokülasyondan 5-7 sonra (dpi) tespit edilmiştir. Klinik belirti göstermeyen ve vektörlerle inoküle edilen buzağılarda gelişen güçlü IgM yanıtının koruyucu bağışıklığı işaret ettiğini göstermiştir.

Bu çalışma, klinik belirti gösteren ve göstermeyen LSD sığırlar arasında bağışıklık yanıtı farklarını ortaya çıkarmakta ve uygun bir bulaştırma modeli kullanmanın uygulanmasının gerektiğine dikkat çekmektedir. Ayrıca, LSD'ye yönelik yeni tanı testleri ve daha iyi aşilar geliştirilmesine yön verecek temel immünolojik ayrıntıları sağlamaktadır.

8. İmmünizasyon sonrasında hücresel ve humoral bağışıklık yanıtları

Afrika Domuz Ateşi, evcil domuzlarda ve yaban domuzlarında ölümcül bir kanama hastalığına (hemarajik hastalık) neden olur. Bu hastalığın, henüz AB'de kullanımı onaylanmış bir aşısı bulunmamaktadır. Deneysel Afrika Domuz Ateşi aşıları kabaca canlı atenüe aşilar (zayıflatılmış virüsler) veya COVID-19 için geliştirilenlere benzer alt ünite aşiları olarak bölümlenebilir. Afrika Domuz Ateşi virüsü, 150'den fazla genin kodlandığı kompleks bir patojendir ve bu virüse karşı koruyucu bağışıklık yanıtı hakkında bilinenler sınırlıdır. Bu durum, alt ünite aşısına hangi genin veya gen kombinasyonunun dahil edileceği seçimini teknik olarak güçleştirmektedir.

Projede, Afrika Domuz Ateşi virüsünün canlı atenüe suşunu domuzlara deneysel olarak inoküle ettik ve üç hafta sonra da virüsün ölümcül bir izolatu ile infekte ettik. Çalışmalar süresince virüse karşı oluşan bağışıklığı ölçtük. Domuzların çoğu bu deneysel infeksiyonlar sonunda sağ kaldı ve domuzların virüse karşı hem antikor hem de hücresel bağışıklık yanıtı geliştirdiğini saptadık. Farklı soydan üretilmiş çiftlik domuzlarında Afrika Domuz Ateşi virüsü ile infeksiyon sonucunda CD8 T-hücreleri (T-sitotoksik-öldürücü T hücreleri) kabiliyeti ile koruma arasında güçlü bir korelasyon görülmüştür.

Bu çalışmalar için geliştirilen bağışıklık testleri ile birlikte hayvanlardan toplanan numuneler şu anda virüsdeki potansiyel koruyucu viral proteinleri tanımlamak amacıyla 150'den fazla Afrika Domuz Ateşi virüs genini taramak için kullanılacaktır. Bunlar, sub-ünite aşilarına dahil edilecek ve bu proteinlerin domuzları hastalıktan koruma potansiyelleri test edilecektir.

9. Difüzyon bize Afrika Domuz Ateşi hakkında neler anlatabilir?

Afrika Domuz Ateşi (ASF), evcil domuzlarda ve yaban domuzlarında görülen ve şiddetli seyreden viral bir hastalık olup infekte domuzların çoğunda ölüme neden olmaktadır; sosyoekonomik ve hayvan sağlığına yönelik etkisi çok büyüktür. Hastalığı kontrol altına almak için ASF'nin nasıl yayıldığının anlaşılması ve önceden farkedilmesi çok önemlidir. EU Horizon 2020 DEFEND projesindeki çalışma paketi 1'in başında yer alan Hayvan Sağlığına Yönelik Alman Federal Araştırma Enstitüsü (Friedrich-Loeffler-Institute), Avrupa yaban domuzları arasında hastalığın yayılımını tahmin etmeye yardımcı olması için ASF'ye yönelik yeni bir risk değerlendirmesi yaklaşımı geliştirmiştir.

Yaban domuzu popülasyonlarında ASF'nin yayılımının ayrıntıları hakkında doğrudan bir bilgi mevcut olmadığından WP-1'deki epidemiyologlar hastalığın yayılımını dolaylı olarak hesaplamıştır: Bilim insanları, saptanan bir ASF vakasının bir sonraki vakadan genellikle ne kadar uzak olduğunu ve iki ardışık vaka arasında normal olarak ne kadar zaman geçtiğini biliyordu. Şimdi bu bilgiden

yararlanarak, çok büyük sayılarda benzer kurgusal ASF salgını modelleri üretecek bir düzen kurdular ve erken hastalık yayılımının, iyi tanımlanmış difüzyon prosesine matematiksel olarak benzediği hipotezini (Brown motion) kullandılar. Epidemiyologlar daha sonra kendi modellerinden türetilmiş istatistiksel ölçümleri kullanarak, daha önce hastalıktan etkilenmemiş bir yaban domuzu popülasyonunda istilanın ardından çeşitli zamanlarda ASF'den etkilenen alan ve hastalığın yayılma hızı hakkında sonuçlar çıkarmaya çalışmışlardır.

Hem yayılma hızı hem de ASF'den etkilenen alan hesaplamaları, ASF yayılımlarını öngörmek için temel ölçümlerdir. Bu ölçümler, hastalığı kontrol altına almak veya en azından hasarını azaltmak amacıyla uygun müdahalenin yapılmasına yardımcı olabilir.



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