



1. Оквир за процену ризика од болести квргаве коже и афричке куге свиња

Инфективни нодуларни дерматитис, односно болест квргаве коже (Lumpy Skin Disease [LSD]) говеда и афричка куга свиња (African Swine Fever [ASF]) код свиња су међународно распрострањене вирусне болести животиња које узрокују значајне губитке сточарској производњи у Европи. LSD изазива нодуларне ране на кожи, изазива грозницу, потенцијално генерализовану болест и смрт код неких заражених говеда. ASF изазива тешко обољење свиња и доводи до грознице, пуцања крвних судова и брзе смрти већине заражених свиња, укључујући и дивље свиње. Мада LSD и ASF вируси не доводе до обољења код људи, опције за контролу обе ове болести животиња су ограничене. Зато је за превенцију ових болести од кључне важности препознавање и максимално смањење ризичних фактора повезаних са LSD-ом и ASF-ом.

Као део пројекта EU Horizon 2020 DEFEND, Немачки федерални институт за истраживање у области здравља животиња (Институт Фридрих Лефлер) покреће радни пакет 1 [WP1] како би развио оквир за процену ризика од LSD и ASF. У првом кораку, WP1 је сакупио широк спектар потенцијалних фактора ризика систематичним претраживањем база података научне литературе. Научници су открили факторе ризика за обе ове болести који су повезани са вирусом, животном средином, биолошком безбедношћу, узгојем, транспортом, мрежом, друштвом, надзором и одговором на болест, затим факторе који су специфични за LSD а односе се на артропде, расе стоке, кретање говеда и инсеката, као и факторе за ASF који се односе на расе свиња, кретање свиња, кретање прерађевина од свињског меса и контролу дивљих животиња.

Идентификовани портфолио потенцијалних фактора ризика ће представљати смерницу за стратегију контроле и превенције LSD-а и ASF-а.

2. Изван граница: улога конфликта и несигурности у ширењу болести животиња

ЕУ и околне земље су доживеле епидемије многих болести животиња у протеклих пет година, укључујући болест квргаве коже (LSD) и афричку кугу свиња (ASF). Ширење ових болести су вероватно олакшали рат или грађански немири. DEFEND, радни пакет 3 „Конфликт, миграција и ширење вируса“ истражује да ли и како грађански ратови, низак ниво безбедности, конфликти и миграција људи служе као покретачи појаве и ширења болести животиња. Посебна пажња је

усперена на LSD и ASF, а размотрене су и друге болести животиња, укључујући слинавку и шап и кугу малих преживара.

Циљеви истраживања су следећи:

- Генерисање чврстих и доследних података/сазнања о томе како на путеве и динамику миграције људи и животиња утичу конфликт, низак ниво безбедности и немири
- Препознавање фактора ризика ширења болести животиња који су повезани са променама образаца мобилности и трговине изазваним конфликтом
- Осмишљавање и тестирање методологије прикупљања података о појави и ширењу болести у конфликтним подручјима

Подаци који се односе на миграцију људи и домаћих животиња биће прикупљани помоћу анкета и партиципаторним методолошким средствима, као што су “партиципаторне руралне процене” и “партиципаторна епидемиологија”, које су засноване на дискусијама у фокусним групама, интервјуима са кључним испитаницима, партиципаторним мапама и инспекцијом стратешких тачака на терену. Прикупљени подаци биће обједињени са званичним подацима из Система за обавештавање о болестима животиња (енг. Animal Disease Notification Systems, ADNS) и са подацима о миграцијама који су добијени са миграционих платформи (IOM, UNDESA, IDMC, UNHCR и сл.).

Активности ће бити фокусиране на три макро подручја: i) пограничне зоне у блискоисточној Сирији/Турској и Сирији/Либану; ii) пограничне зоне у балканском региону; iii) пограничне зоне између Украјине, Румуније, Молдавије и Мађарске

3. Превенција и контрола афричке куге свиња

Задатак се фокусира на факторе ризика који су повезани са преношењем афричке куге свиња (ASF) на нивоу фарме. Исход задатка постигнут је опсежним прегледом литературе о епидемиолошким чиниоцима који су одговорни за ширење ASF-а код домаћих свиња и дивљих свиња које долазе у контакт са домаћим свињама.

ASF вирус је изузетно инфективан и изузетно отпоран вирус који узрокује обољење и домаћих и дивљих свиња.

Претраживањем најновије литературе о ширењу ASF вируса у источноевропским земљама и Белгији, идентификовали смо кључне факторе ризика за пренос болести на нивоу фарме, што, сумирано, изгледа овако:

- Кретање животиња (директан контакт између свиња). Присуство заражених дивљих свиња које могу да преносе вирус на дивље и домаће свиње. Контакти између дивљих и домаћих свиња су највећи фактор ризика у системима слободног узгоја као и у сектору дворишног узгоја. Мртве животиње (лешеви) остају инфективни током дужег времена.
- Преношење вируса на опреми, одећи и обући, јесте фактор ризика повезан са активностима ловаца, сакупљача печурака и јагодичастог воћа, ветеринара и особа које се баве лечењем животиња а нису ветеринари, кретањем возила са фарме и до фарме, као и са близином кланице или депоније отпада.

- У сектору дворишног узгоја главни фактори ризика су изазвани људским фактором: ниске мере биолошке безбедности, илегално кретање заражених свиња, храњење остацима хране и непотпуно пријављивање кретања животиња повезано са „хитном продајом“ заражених свиња.

Да би се умањили горе наведени фактори ризика, императив је да се побољшају опште мере биолошке безбедности на фармама, ставе под контролу системи слободног узгоја, забрани храњење остацима хране, као и да се промовише спремност фармера и техничара према свим неопходним мерама предострожности које треба да усвоје како би заштитили своје запате од преношења ASF вируса.

4. Побољшање алатки за истраживање неутрализационих антитела за борбу против вируса болести квргаве коже.

Болест квргаве коже (LSD) је нова болест која се шири глобално, не познајући државне границе, и значајно утиче на економију. Узрочник, вирус болести квргаве коже (LSDV), инфицира говеда и доводи до системске болести што даље доводи до суштинских производних губитака. Потребне су побољшане лабораторијске методе за развијање бољих вакцина и дијагностичких тестова.

За умножавање LSD вируса доступан је само ограничен број ћелијских линија, што утиче на накнадна истраживања. Као део пројекта Horizon 2020 DEFEND користили смо ћелијску линију специфичну за домаћина, ћелије говеђег бубрега Madin-Darby (MDBK). Показало се да су MDBK ћелије пријемчиве за инфекцију LSD вирусом јер образују изразита жаришта типа плакова.

На основу ових резултата могли смо да развијемо тест неутрализације имунофлуоресценције (IFVNT) за откривање и квантификовање неутрализационих антитела (nAbs) против LSD вируса – што је кључна компонента заштитног имунитета против LSD вируса. Коришћењем серума добијеног од говеда експериментално инфицираног LSD вирусом и означавањем помоћу флуоресцентног секундарног антитела, тест је могао тачно да открије nAbs код инфицираних и неинфицираних животиња. Визуелизација флуоресцентних жаришта побољшала је осетљивост теста, што олакшава тумачење резултата и делимично квантификовање nAbs код говеда током периода испитивања.

Побољшање тестова за откривање nAbs је од суштинског значаја за процену ефикасности вакцине против LSD вируса. Методе описане у нашим истраживањима пружају додатне алатке за ову сврху и могу се имплементирати у свим лабораторијама које истражују LSD вирус. Све у свему, ове алатке доприносе програмима контроле LSD-а и његове превенције.

5. Преглед фактора ризика од уноса афричке куге свиња у узгој свиња у оквиру сценарија Европске уније

Током претходне деценије афричка куга свиња (ASF) је изашла из свог првобитног подручја ендемичности и проширила се по Европи и Азији. Ова еволуција ASF-а је изазвала озбиљне економске штете у погођеним земљама, јер је преобликовала сектор узгоја свиња и комерцијалну мрежу за продају свињског меса широм света. Обавили смо преглед литературе како бисмо идентификовали факторе ризика који су повезани са уношењем ASF на фарме.

Најкритичнији фактори ризика су били следећи:

1. Ниске мере биолошке безбедности за комерцијалне, некомерцијалне и системе узгоја свиња на отвореном
2. Системи слободног узгоја или узгоја на отвореном сматрају се, сами по себи, критичним ризицима
3. Контакт са зараженим свињама које су купљене у зараженим подручјима
4. Контакт са дивљим свињама, свињама из слободног узгоја или са свињама са других фарми
5. Храњење кухињским остацима (помијама) или сточном храном непоузданих произвођача
6. Контакт са контаминираном опремом, укључујући обућу или одећу фармера, ловаца, ветеринара и особа које се баве лечењем животиња а нису ветеринари
7. Непријављивање животиња са симптомима или незаконито клање на фарми по хитном поступку

Пошто није доступна ефикасна вакцина или терапија за ASF, сви актери треба да прилагоде своју праксу управљања, а посебно своје мере биолошке безбедности, како би избегли излагање својих фарми овим критичним ризицима.

6. Процена ризика од контаминације животне средине од стране корисника шума у ендемским подручјима афричке куге свиња

Афричка куга свиња (ASF) погађа различите врсте дивљих и домаћих свиња и представља еколошки и економски проблем, што узрокује велике директне и индиректне економске губитке у области узгоја свиња и производње прерађевина од свињског меса. Вирус може дуго да преживи у животној средини, а људи могу ненамерно да делују као вектори преко контаминираних опрема, доприносећи тако ширењу болести. Да бисмо проценили величину овог проблема, спровели смо симулационо испитивање у коме смо проценили вероватноћу контаминације ASF-ом у вези са различитим врстама људских активности у шумама.

Наше испитивање је показало да је загађење животне средине вирусом ASF прилично мало вероватан догађај. Међутим, када се процес контаминације прошири на читаву годину и велика географска подручја, акумулација истих активности у шумама у времену и простору произвела је очекивање да ће се сваке године догодити на хиљаде догађаја контаминације. Допунска исхрана дивљих свиња и лов на њих показали су се као најризичније активности у погледу вероватноће контаминације.

Ризик од контаминације животне средине вирусом ASF не треба занемарити када се планирају мере управљања за сузбијање циркулације вируса ASF. Допунска исхрана дивљих свиња мора се максимално смањити или избегавати у подручјима која су заражена ASF-ом. Лов на дивље свиње као средство управљања и надзора треба пажљиво проценити, узимајући у обзир и његове предности и повезане ризике од контаминације. Неопходно је побољшати и спровести строге мере биолошке безбедности код свих активности људи које имају везе са шумама у ендемским областима ASF-а.

7. Имунолошки одговор на експерименталну инфекцију LSD вирусом

Вирус болести квергаве коже (LSDV) изазива тешко обољење код говеда и бивола, а преносе га артроподни вектори који се хране крвљу. Информације о имунолошком одговору на LSD вирус су ограничене, што отежава развој алата за контролу болести.

Експериментално смо инокулисали телад LSD вирусом било инокулацијом путем игле или инокулацијом путем артропода користећи LSD вирусом инфициране векторе *Stomoxys calcitrans* и *Aedes aegypti*. Седам од седамнаест телади инокулисаних путем игле (41%) и 8/10 (80%) телади инокулисаних артроподама развило је клиничку болест, дефинисану као развој вишеструких кожних лезија.

Пронашли смо варијабилан ћелијски посредован имуни одговор (CMI) специфичан за LSD вирус код телади инокулисаних путем игле, који се није могао разликовати код животиња са или без клиничких манифестација болести. Међутим, CMI одговор код телади инокулисаних артроподама био је веома доследан, са јасном разликом између животиња са клиничким манифестацијама (снажан CMI одговор) и оних без клиничких манифестација (слаб CMI одговор).

Неутрализациона антитела против LSD вируса откривена су код свих инокулисаних говеда од 5–7 dpi. Снажан IgM одговор код телади без клиничких манифестација инокулисаних путем артропода сугерише да је ово показатељ заштите.

Ово испитивање открива разлике у имунолошком одговору између животиња заражених LSD вирусом са или без клиничких манифестација болести и наглашава важност коришћења релевантног модела преноса. Такође пружа основне имунолошке детаље за усмеравање развоја нових дијагностичких тестова и побољшаних вакцина за LSD.

8. Ћелијски и хуморални имуни одговори након имунизације

Вирус афричке куге свиња изазива смртоносну хеморагичну болест домаћих и дивљих свиња за коју тренутно не постоји вакцина која има лиценцу за употребу у ЕУ. Експерименталне вакцине против афричке куге свиња могу се широко поделити на вакцине са ослабљеним (атенуираним) живим вирусом, које у себи садрже ослабљену верзију вирулентног вируса, или вакцине које у себи садрже специфичне делове (субјединице) вируса, сличне онима развијеним за COVID. Вирус афричке куге свиња је сложен патоген који кодира више од 150 гена, а наше знање о заштитном имуносном одговору против вируса је ограничено. Ово чини избор гена или комбинације гена који ће се укључити у субјединичну вакцину технички изазовним.

Експериментално смо инокулисали свиње живим ослабљеним сојем вируса афричке куге свиња, а затим смо их три недеље касније инфицирали изолатом вируса који обично узрокује угинуће животиња. Током испитивања смо мерили имуносне одговоре на вирус. Многе свиње су преживеле експерименталну инфекцију и открили смо да свиња производи и антитела и ћелијски посредоване имуне одговоре на вирус. Код укрштених фармских свиња, способност CD8 Т-ћелија, врсте имуних ћелија које су способне да открију и убију ћелије инфициране вирусом, била је у најјачој корелацији са заштитом након вештачке инфекције смртоносним вирусом афричке куге свиња.

Имунолошки тестови развијени за ова испитивања, у комбинацији са узорцима прикупљеним од животиња, сада ће се користити за скрининг 150 и више гена вируса афричке куге свиња како би се идентификовали потенцијално заштитни вирусни протеини. Они ће бити уграђени у субјединичне вакцине и тестирани на њихов потенцијал да заштите свиње од болести.

9. Шта нам дифузија може рећи о афричкој куги свиња

Афричка куга свиња (ASF) је тешка вирусна болест домаћих и дивљих свиња која узрокује смрт код већине заражених свиња и има огроман утицај на друштво и економију, као и на добробит животиња. За контролу болести важно је разумети и предвидети како се ASF шири. Као предводник радног пакета 1 у пројекту EU Horizon 2020 DEFEND, Институт Фридрих Лефлер, Немачки федерални истраживачки институт за здравље животиња, недавно је развио нови приступ процени ризика за ASF као помоћ у предвиђању ширења ове болести међу дивљим свињама у Европи.

Пошто не постоје директне информације о детаљима ширења ASF-а у популацијама дивљих свиња, епидемиолози из WP-1 процењују да се болест шири индиректно: научници су знали колико обично треба да прође од једног откривеног случаја ASF-а до следећег и колико времена нормално пролази између два узастопна случаја. Са овим сазнањем, они су се послужили триком да би генерисали велики број сличних фиктивних образаца појаве ASF-а, претпостављајући да образац раног ширења болести математички подсећа на добро описан процес дифузије (Брауново кретање). Епидемиолози су затим користили статистичке мере изведене из њиховог модела да би извукли закључке о брзини ширења болести и о подручју захваћеном ASF-ом у различитим временским тачкама након уноса вируса у претходно неинфицирану популацију дивљих свиња.

Обе процене, брзине ширења ASF-а и подручја захваћеног ASF-ом, кључни су показатељи за предвиђање начина на који се ASF шири. Они могу помоћи да се на одговарајући начин реагује и успостави контрола болести или да се барем смањи штета коју изазива.



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