

IZVAJANJE MONITORINGA NA PRISOTNOST VIRUSA IN PROTITELES AFRIŠKE PRAŠIČJE KUGE MED LETI 2014 IN 2015 V SLOVENIJI

Ivan Toplak^{1*}, Danijela Rihtarič¹, Gorazd Vengušt², Diana Žele², Peter Hostnik¹, Jože Grom¹

¹Inštitut za mikrobiologijo in parazitologijo, ²Inštitut za patologijo, divjad, ribe in čebele, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

ivan.toplak@vf.uni-lj.si

Afriška prašičja kuga (APK) je kompleksna virusna bolezen, ki je v visokem odstotku smrtna za prašiče in pomembno vpliva na promet z živimi prašiči v okuženi regiji, državi in v mednarodni trgovini. Divji prašiči so lahko pomemben vir okužbe za domače prašiče in pokazatelj vztrajanja okužbe na nekem področju. Protitelesa, ki jih ugotovimo zgodaj po okužbi se daljši čas ohranijo v krvi obolelih prašičev, zato je dokazovanje protiteles, skupaj z dokazovanjem virusa APK, pomembno diagnostično orodje pri izvajanju programa nadzora. Leta 2014 smo v okviru letne odredbe zbrali 537 vzorcev, leta 2015 pa 432 vzorcev serumov divjih prašičev ter jih testirali na prisotnost protiteles s testom ELISA. Specifičnih protiteles APK nismo dokazali v nobenem vzorcu. Dodatno smo v tem obdobju z metodo PCR v realnem času na prisotnost virusa APK testirali skupno 588 vzorcev organov poginjenih domačih prašičev ter 36 vzorcev poginjenih divjih prašičev. Prisotnosti virusa APK nismo dokazali v nobenem od preiskovanih vzorcev. Monitoring na APK smo v Sloveniji izvedli prvič in s tem pridobili pomembne izkušnje z odvzemom vzorcev in rutinskim izvajanjem testov za diagnostiko APK. V primeru izbruha je ključno zgodnje odkrivanje in hitra potrditev povzročitelja, da bi preprečili nadaljnjo širjenje virusa.

Ključne besede: Afriška prašičja kuga; monitoring; dokazovanje; prašiči

Uvod

Afriška prašičja kuga se je ponovno vnesla na evropski kontinent leta 2007, ko so zabeležili prvi izbruh bolezni v Gruziji. Virus genotipa II se je nato hitro raznesel v sosednje države in zajel celotno Kavkaško regijo, vključno z Rusijo, Ukrajino in Belorusijo (1). Sočasne okužbe v populaciji domačih in divjih prašičev so povzročile nastanek endemično okuženih območij v državah vzhodnega dela Evrope. Leta 2014 so prve primere ugotovili v štirih članicah Evropske unije (EU); v Litvi, Poljski, Latviji in Estoniji. Prvi primeri bolezni so bili v vseh štirih državah povezani z najdbo poginjenih divjih prašičev. Divji prašiči igrajo na endemično okuženih območjih pomembno vlogo pri ohranjanju virusa v regiji (2). Zaradi kompleksnih varnostnih, ekonomskih, socioloških in okoljskih danosti je nadzor bolezni na obsežnih endemično okuženih območjih pomanjkljiv, kar predstavlja stalno nevarnost za širjenje virusa na neokužena območja in stalno grožnjo prašičereji v državah EU (3). V Sloveniji APK še nismo ugotovili, vendar obstaja realna nevarnost, da se virus v prihodnosti vnese med divje ali domače prašiče. Redno strokovno izobraževanje, striktno izvajanje preventivnih ukrepov in zgodnje odkrivanje okužbe lahko bistveno zmanjša ekonomsko škodo in prepreči nadaljnje širjenje bolezni.

Material in metode

V okviru letne odredbe smo leta 2014 zbrali 537 vzorca serumov in leta 2015 432 vzorcev serumov odstreljenih divjih prašičev ter jih testirali na prisotnost protiteles s testom ELISA (4, 5). Uporabili smo komercialni test (INGEZIM PPA Compac 1.1.PPA.K3) in testiranje izvedli po navodilih proizvajalca. V skladu z diagnostičnim priporočilom OIE in priporočilom EU referenčnega laboratorija (EURL) smo vse pozitivne in sumljive vzorce v testu ELISA testirali s potrditveno metodo imunobloting za specifični dokaz protiteles APK. Test smo izvajali po protokolu, ki smo ga pridobili iz EURL.

Na prisotnost virusa APK smo z metodo PCR v realnem času v letu 2014 testirali 286 vzorcev organov poginjenih domačih prašičev v letu 2015 pa 302 vzorcev. V istem obdobju smo na prisotnost virusa testirali tudi 36 vzorcev divjih prašičev, ki so bili najdeni poginjeni. Izolacijo nukleinske kisline smo izvedli s komercialnim kompletom, dokaz virusa pa z metodo PCR v realnem času po priporočenem protokolu EURL, ki ga uporabljamo v laboratoriju za dokaz virusa APK.

Rezultati

V okviru letne odredbe smo v letih 2014 in 2015 testirali skupno 969 vzorcev serumov divjih prašičev na prisotnost protiteles v testu ELISA. Leta 2014 smo v testu ELISA ugotovili 9 vzorcev, ki so reagirali pozitivno, leta 2015 pa 4 vzorce, skupno 13 vzorcev (1,39%). Te smo v nadaljevanju testirali s potrditvenim testom imunoblotinga. V nobenem od 13 vzorcev nismo ugotovili specifičnih protiteles proti virusu APK. Virus APK z metodo PCR v realnem času nismo dokazali v nobenem od 588 vzorcev domačih in 36 vzorcev poginjenih divjih prašičev.

Razprava

Monitoring na APK je bil v letu 2014 v Sloveniji uveden iz dveh razlogov. Prvi je bil dvigniti pripravljenost laboratorijskih kapacitet za testiranje vzorcev na prisotnost virusa in protiteles APK, drugi razlog pa je povečati zavedanje o nevarnosti vnosa APK v Slovenijo in pomenu kontrole APK pri divjih prašičih. Negativni rezultati izvedenega monitoringa potrjujejo odsotnost bolezni. Vsekakor že več kot enoletno vztrajanje okužbe v štirih okuženih članicah EU, kljub velikim naporom za izkoreninjenje APK ne daje dobrih obetov, da se bo nevarnost v Evropi hitro zmanjšala. Kako doseči kontrolo APK pri divjih prašičih in izkoreniniti APK v EU še vedno ni popolnoma jasno, čeprav je zakonodaja predpisana in se izvaja. Pri vnosu virusa v novo državo je ključno, da se prepreči prenos na divje prašiče, ker je bolezen potem težje zatirati in sčasoma povzroči nastanek endemično okuženega območja. Prav tako je že jasno, da evropske izkušnje z zatiranjem klasične prašičje kuge pri APK ne dajejo zadovoljivih rezultatov in bo zato potrebno v prihodnje prilagoditi in uvesti nekatere nove ukrepe, specifične za zatiranje virusa APK. Prav tako je potrebno v Sloveniji nameniti več pozornosti takojšnji postavitvi suma ob zaznavanju večjih poginov pri domačih ali divjih prašičih, izobraževanju in osveščanju rejcev ter natančnemu izvajanju preventivnih ukrepov.

Reference

1. Gogin A, Gerasimov V, Malogolovkin A, Kolbasov D. African swine fever in North Caucasus Region and the Russian Federation in years 2007-2012. *Virus Res* 2013; 173: 198–203.
2. Sanchez-Vizcaino JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol* 2015; 152: 9–21.
3. Costard C, Mur L, Lubroth J, Sanchez-Vizcaino JM, Pfeifer DU. Epidemiology of African swine fever virus. *Virus Res* 2013; 173: 191–7.
4. Odredba o izvajanju sistematičnega spremljanja stanja bolezni in cepljenj živali v letu 2014. *Ur List RS* 2013; št. 100: 11018.
5. Odredba o izvajanju sistematičnega spremljanja stanja bolezni in cepljenj živali v letu 2015. *Ur List RS* 2014; št. 24(91): 10223-27.

Monitoring of African swine fever virus and antibodies between 2014 and 2015 in Slovenia

African swine fever (ASF) is a complex and lethal disease of swine with major negative impact on regional, national and international trade. The wild boar can be important source of virus infection for domestic pig population and indicator of ASF virus persistence in the environment. The early appearance and long term persistence of ASF antibodies make the antibody detection techniques together with virus detection essential in control programmes. During 2014 a total of 537 samples and in 2015 432 wild boar serum samples were collected within national annual decree for ASF and tested by ELISA for presence of antibodies. All samples were negative for ASF antibodies. In addition 588 pig tissue samples of dead domestic pigs and 36 samples from wild boars found dead were collected and tested by real-time PCR for detection of ASF virus. No virus was detected in tested samples. This was the first monitoring of ASF conducted in Slovenia and first important experiences in our country with samples collection and routine testing for ASF. In case of an outbreak the early detection and rapid diagnosis of ASFV and fast veterinary service on the field are of essential importance for preventing further spreading and eradication of virus.

Key words: African swine fever; monitoring; detection; pig