

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND  
Tehnoloogiainstituut  
Molekulaar- ja rakubioloogia instituut  
Geenitehnoloogia eriala

**Marily Meldre**

**SIGADE AAFRIKA KATKU VIIRUS**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Juhendaja MD, DSc Eva Žusinaite

TARTU 2016

## **SIGADE AAFRIKA KATKU VIIRUS**

**Lühikokkuvõte:** Sigade Aafrika katk (ASF) on äärmiselt nakkav sigade haigus, millel on seatööstusele laastav mõju. 2007. a toimunud haiguse ülekanne Ida-Aafrikast Gruusiasse viis selle laiaulatusliku levikuni nii naaberriikidesse kui ka alates 2014. a Euroopa Liidu idapoolsematesse riikidesse, sh Eestisse. Käesoleva referatiivse uurimistö eesmärk on anda ülevaade nii ASF tekitaja sigade Aafrika katku viiruse (ASFV) kui ka haiguse enda omadustest, millele järgneb töö lõpus ka lühike kokkuvõte haiguse epidemioloogilisest olukorrast ja kasutatavatest tauditõrjemeetmetest Eestis. Kuna ASF vastane vaktsiin või ravi hetkel puuduvad, sõltub haiguse ennetamine peamiselt nakatunud piirkondadest pärit elussigade ja sealihasaaduste impordi piirangute ja seakasvatustevõtetes rangete bioohutusmeetmete rakendamisest.

**Võtmesõnad:** sigade Aafrika katku viirus, sigade Aafrika katk, epidemioloogia

**CERCS kood:** B230, Biomeditsiin/Mikrobioloogia, bakterioloogia, viroloogia, mükoloogia

## **AFRICAN SWINE FEVER VIRUS**

**Abstract:** ASF is a highly infectious animal disease that has devastating effect on pig industry. Transmission of the disease from East Africa to Georgia in 2007 resulted in a widespread distribution to neighbouring countries and in 2014 also to eastern part of European Union, including Estonia. The aim of the current bachelor thesis is to give an overview of the characteristics of the causative agent of ASF, African swine fever virus, and also of the disease itself, that in the last chapter of this thesis is followed by a brief summary of the current epidemiological status and control measures of ASF in Estonia. There is currently no effective vaccine or treatment against ASF and controlling of the disease depends primarily on the employment of import restrictions of live pigs and pig products from infected areas and strict biosecurity measures in pig farms.

**Keywords:** African swine fever virus, African swine fever, epidemiology

**CERCS code:** B230, Biomedicine/Microbiology, bacteriology, virology, mycology

## SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID .....	4
SISSEJUHATUS .....	5
1 SIGADE AAFRIKA KATKU VIIRUSE ISELOOMUSTUS.....	6
1.1 Klassifikatsioon .....	6
1.2 Virion.....	7
1.3 Genoomi organisatsioon ja valgud .....	7
2 SIGADE AAFRIKA KATKU EPIDEMIOLOOGIA .....	13
2.1 Tagataust ja geograafiline levik.....	13
2.2 Peremeesring ja ülekandeteed .....	14
2.3 Molekulaarne epidemioloogia .....	16
3 KLIINILISED AVALDUMISED .....	18
4 DIAGNOSTIKA.....	21
4.1 Seroloogilised meetodid .....	22
4.2 Viroloogilised meetodid .....	23
5 ENNETAMINE JA TAUDITÕRJEMEETMED .....	25
6 ASF EESTIS.....	27
KOKKUVÕTE .....	31
SUMMARY.....	32
KASUTATUD KIRJANDUS.....	34
KASUTATUD VEEBIAADRESSID.....	38
LISAD .....	39
Lisa 1. ASFV Georgia2007/1 isolaadi genoomi organisatsioon .....	39
Lisa 2. Plakat “Bioohutus farmis sigade Aafrika katku vältimiseks” .....	40
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks .....	41

## KASUTATUD LÜHENDID

**ASF** – sigade Aafrika katk (*African swine fever*)

**ASFV** – sigade Aafrika katku viirus (*African swine fever virus*)

**DIF** – otsene immunofluorestsentsi test (*direct immunofluorescence assay*)

**EMV** – rakuvälised küpsed virionid (*extracellular mature virions*)

**ELISA** – ensüümseotud immunosorbent analüüs (*enzyme-linked immunoabsorbent assay*)

**HAD** – hemadsorptsiooni test (*hemadsorption assay*)

**kDa** – kilodalton (*kilodalton*)

**MGF** – multigeenide perekond (*multi gene family*)

**PCR** – polümeraasi ahelreaktsioon (*polymerase chain reaction*)

**rPCR** – reaalaaja polümeraasi ahelreaktsioon (*real-time polymerase chain reaction*)

**TRS** – tandeemne korduvjärjestus (*tandem repeated sequence*)

## SISSEJUHATUS

Sigade Aafrika katk (ASF, *African Swine Fever*) on üks olulisemaid ja raskemini kulgevaid kodusigade haigusi. Selle kõrgelt infektsioosiline iseloom ja võime levida pikkade vahemaade üle teevad sellest ühe kardetuma loomade haiguse maailmas. ASFil on seatööstusele laastav mõju, põhjustades puhangute ajal suure arvu loomade surma nii haiguse enda kui ka loomade hukkamise läbi ning täiendavaid majanduskahjusid kaubanduspiirangute tõttu. Haiguse olukord on eriti murettekitav, kuna siiani ei ole õnnestunud ka efektiivse ASF vastase vaktsiini väljatöötamine.

Eestis tuvastati esimene ASF juhtum metssigadel 2014. a septembris ja kodusigadel 2015. a juulis (Maaeluministeeriumi kodulehekülgl). Taudipuhangute tõttu hukati üksnes 2015. a juuli–september 22 000 kodusiga ning 2016. a prognoositakse seakarja vähenemist võrreldes 2014. a seisuga ligi 30% 250 000 seani. (Sigade Aafrika katku mõju..., 2015). “Seakatku mõju ettevõtjatele (sh söodatööstus) müügikäibe languse ja lisakuludena ulatus 2015. a 7 miljoni euroni ja 2016. a prognoositakse selle kasvumist 36 miljoni euroni” (Mikovitš, 2016). Kui viimane haiguspuhang Eesti kodusigade hulgas registreeriti 2015. a septembri lõpus, siis vastukaaluks Eesti metssigade hulgas ei näita haigus mingitki taandumismärki.

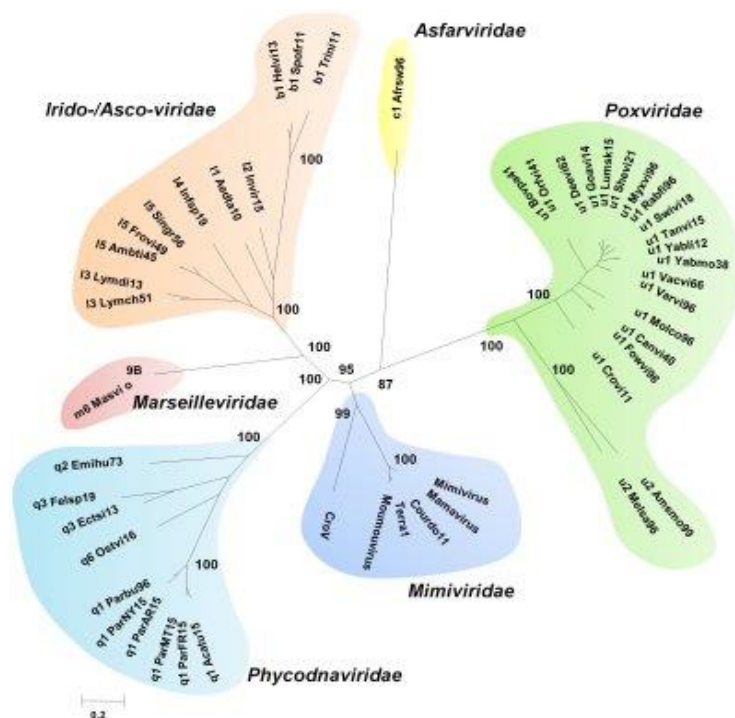
Käesoleva referatiivse uurimistöö eesmärk on anda ülevaade ASF tekitajast sigade Aafrika katku viirusest e otsetõlkes ka sigade Aafrika palaviku viirusest (ASFV, *African swine fever virus*)(eestikeelses kirjanduses rohkem levinud sigade Aafrika katku viiruse nimetuse tõttu kasutab autor edaspidi töös antud nimetust). Töö sissejuhatavas annab autor ülevaate ASFV omadustest, sh viiruse genoomi organisatsioonist ja elutsüklist. Töö põhiosas kirjeldab autor lisaks ASF kliinilistele avaldumistele ning ennetamisele ja tauditõrjemeetmetele veidi põhjalikumalt ka haiguse epidemioloogiat ja diagnostikat. Töö viimane osa sisaldab lühikest kokkuvõtet ASF epidemioloogilisest olukorrast ning kasutatavatest tauditõrjemeetmetest Eestis antud töö kirjutamise ajal autorile saadaval olnud allikate põhjal.

Käesolev bakalaureusetöö on valminud Tartu Ülikooli Tehnoloogiainstituudis. Autor tänab siiralt oma juhendajat Eva Žusinaidet põhjaliku juhendamise, kasulike nõuannete ja julgustavate sõnade eest, mis tegid võimalikuks antud töö valmimise.

# 1 SIGADE AAFRIKA KATKU VIIRUSE ISELOOMUSTUS

## 1.1 Klassifikatsioon

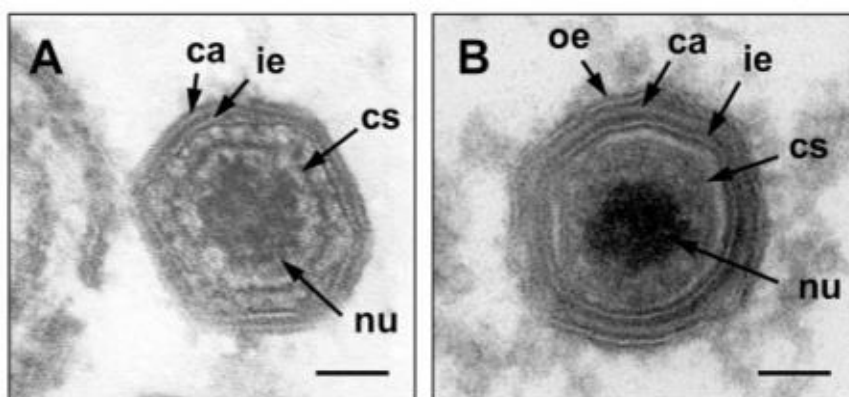
ASFV on hetke seisuga sugukonna *Asfarviridae* (*African swine fever and related virus*) ainsa perekonna *Asfivirus* ainus esindaja. Sugukond *Asfarviridae* kuulub nukleotsütoplasmaatiliste suurte DNA viiruste supersugukonda (NCLDV, *nucleo-cytoplasmic large DNA viruses*) (**Joonis 1**), mille esindajate ühisjooneks on vähemalt osaline replitseerumine tsütoplasmas ning selle suhteline sõltumatus peremeesraku tuumast – nad kodeerivad mitmeid konserveerunud valke, mis vahendavad enamikku viiruse paljunemiseks olulistest protsessidest. Genoomijärjestuste ja geenikogumite analüüsi põhjal arvatakse, et antud viirustel on ühine evolutsiooniline eelkäija. (Dixon jt, 2013a). Genoomi ja geeniekspressiooni strateegia poolest sarnaneb ASFV kõige rohkem poksviirustega, morfoloogiliselt aga iridoviirustega. (Andrés jt, 2001). Teadaolevalt on ASFV ainus lülialgsete poolt siirutatud DNA viirus (arboviirus) (Costard jt, 2013).



**Joonis 1.** Nukleotsütoplasmaatiliste suurte DNA viiruste (NCLDV) supersugukonna fülogeneesipuu (Colson jt, 2011).

## 1.2 Virion

ASFV virion on ikosaeedrilise sümmeetriaga osake, diameetriga 187–217 nm. Sel on keeruline mitmekihiline struktuur, koosnedes seestpoolt väljapoole loetledes viiruse genoomi sisaldavast tuumakesest ja seda ümbritsevast valgulisest “core” kestast, sisemisest lipiidümbrisest (*envelope*) ning kapsiidist (**Joonis 2**). Sellise struktuuriga virione nimetatakse rakusisesteks küpseteks virionideks (IMV, *intracellular mature virions*), mis vabanevad rakkude lüüsil. Esinevad ka teist tüüpi virionid, rakuvälised küpsed virionid (EMV, *extracellular mature virions*), millel on lisaks sisemisele ümbrisele veel ka plasmamembraanist välja pungudes omandatud väline ümbris. (**Joonis 2**) (Salas jt, 2012). Välise ümbrise tähtsus on ebaselge, kuna see ei ole vajalik ASFV infektsioosilisuseks (Andrés jt, 2001).



**Joonis 2.** ASFV IMV (A) ja EMV (B) elektronmikroskoobis. Näidatud on virioni kihid. Tuum (nu), „core“ kest (cs), sisemine ümbris (ie), kapsiid (ca) ja väline ümbris (oe). Joonepikkus 50 nm. (Salas jt, 2012; muudatustega).

## 1.3 Genoomi organisatsioon ja valgud

ASFV genoomiks on lineaarne kaheaahelaline DNA molekul (dsDNA, *double stranded*), mille pikkus varieerub sõltuvalt isolaadist 170 kbp (kiloaluspaari, *kilobase pairs*) ja 193 kbp vahel. DNA kaks ahelat on omavahel kovalentselt seotud ja moodustavad genoomi otses lingutaolised juuksenõelstruktuurid (*hairpin loops*). Vahetult juuksenõelstruktuuridele järgnevad kummaski genoomi otsas pikad invertteeritud korduvjärjestused (TIR, *terminal inverted repetition*), mille funktsionaalne tähendus on hetkel teadmata. Mõningad geenisisesed ja geenide vahelised regioonid sisaldavad samuti lühikesi tandeemseid korduvjärjestusi (TRS, *tandem repeated sequence*), kuid nendegi funktsioon ei ole veel teada. (Dixon jt, 2013a).

Genoom kodeerib sõltuvalt isolaadist 151–167 avatud lugemisraami (ORF, *open reading frame*), mis paiknevad lähestikku ja mida loetakse mõlema DNA ahela pealt (**Joonis 3 ja Lisa 1**) (ORFide nimetused erinevad isolaaditi). Sarnaselt teiste viirustega, mille genoomi transkriptsioon toimub tsütoplasmas, ei sisalda geenid introneid ja transkripte ei splaissita. Samuti pole tõendeid viiruse poolt kodeeritud mikro-RNAde esinemise kohta. ORFidest ülesvoolu paiknevad viirusspetsiifilisi promootereid sisaldavad lühikesed järjestused, mis reguleerivad ajaliselt kolme klassi kuuluvate – varajaste, vahepealsete ning hiliste, geenide transkriptsiooni. Genoomi A + T sisaldus on umbes 61–62 %. (Dixon jt, 2013a).

EMVd sisaldavad üle 50 valgu, sh mitmeid varajaseks mRNA transkriptsiooniks ja protsessinguks vajalikke ensüüme ja faktoreid nagu RNA polümeraas, polü-A polümeraas, guanülültransferaas ja proteiin-kinaas (Dixon jt, 2013). Osade valkude funktsioonid on teada. Tuvastatud 17 struktuurvalgu hulka kuuluvad p72 (peamine kapsiidivalk), p30, p12, p17, p22, p54 või j13L, p49, j18L, j5R ja EP402R. Genoom kodeerib ka 220 kDA (kilodalton) polüproteiini, mille lõikamise produktideks on struktuurvalgud p150, p37, p14 ja p34; ning 62 kDA polüproteiini, mille produktideks on struktuurvalgud p35 ja p15. Polüproteiinide lõikamisel osaleb SUMO-1-spetsiifiliste proteaaside sugukonnaga suguluses olev viiruse poolt kodeeritud proteaas. Virionides asub ka kolm DNAd siduvat valku: p10, p11.6 ja p14.5. (Dixon jt, 2013a).

Viirus kodeerib eeldatavasti ka ensüüme, mis osalevad nukleotiidide metabolismis (ribonukleotiid-reduktaas, tümidiin-kinaas, tümidüülaat-kinaas, deoksüüridiin-trifosfataas) ning DNA replikatsioonil, parandamisel ja transkriptsioonil (DNA polümeraas, DNA polümeraas X, DNA ligaas, topoisomeraas II, gúanüültransferaas, koos DNA helikaaside superperekonna II subühikut ja endonukleas). (Dixon jt, 2013a). On leitud, et tümidiin-kinaasi ja deoksüüridiin-trifosfataasi geenide deletsioon ei mõjuta viiruse replikatsiooni koekultuuri rakkudes, kuid vähendab drastiliselt viiruse replikatsiooni täielikult diferentseerunud makrofaagides ja virulentsust sigadel. (Moore jt, 1998; Oliveros jt, 1999). Viirus kodeerib ka kahte posttranslatsioonilisel valkude modifitseerimisel osalevat ensüümi (ubikvitiini konjugeeriv ensüüm ja seriini/treoniini proteiin-kinaas) ja ühte isoprenoidsete ühendite sünteesil osalevat ensüümi (trans-prenüül-transferaas). Viiruse kodeeritud NUDix hüdrolaas osaleb eeldatavasti difosfoinositool-polüfosfaatide degradeerimisel. Viirus kodeerib ka kahte redoksmetabolismis osalevat valku, NifS ja ERV1 homolooge. (Dixon jt, 2013a). On täheldatud, et ERV1 homoloogi geeni deletsioon pidurdab viiruse küpsemist (Lewis jt, 2000).

Genoomi otste lähedastes piirkondades asuvad viis erinevat multigeenide perekonda MGF (*multi gene family*) 110, MGF 360, MGF 530, MGF 300 ja MGF 100. Eri isolaatide genoomi suuruse erinevused tulenevadki suuresti nende MGFide geenide kaotusest või

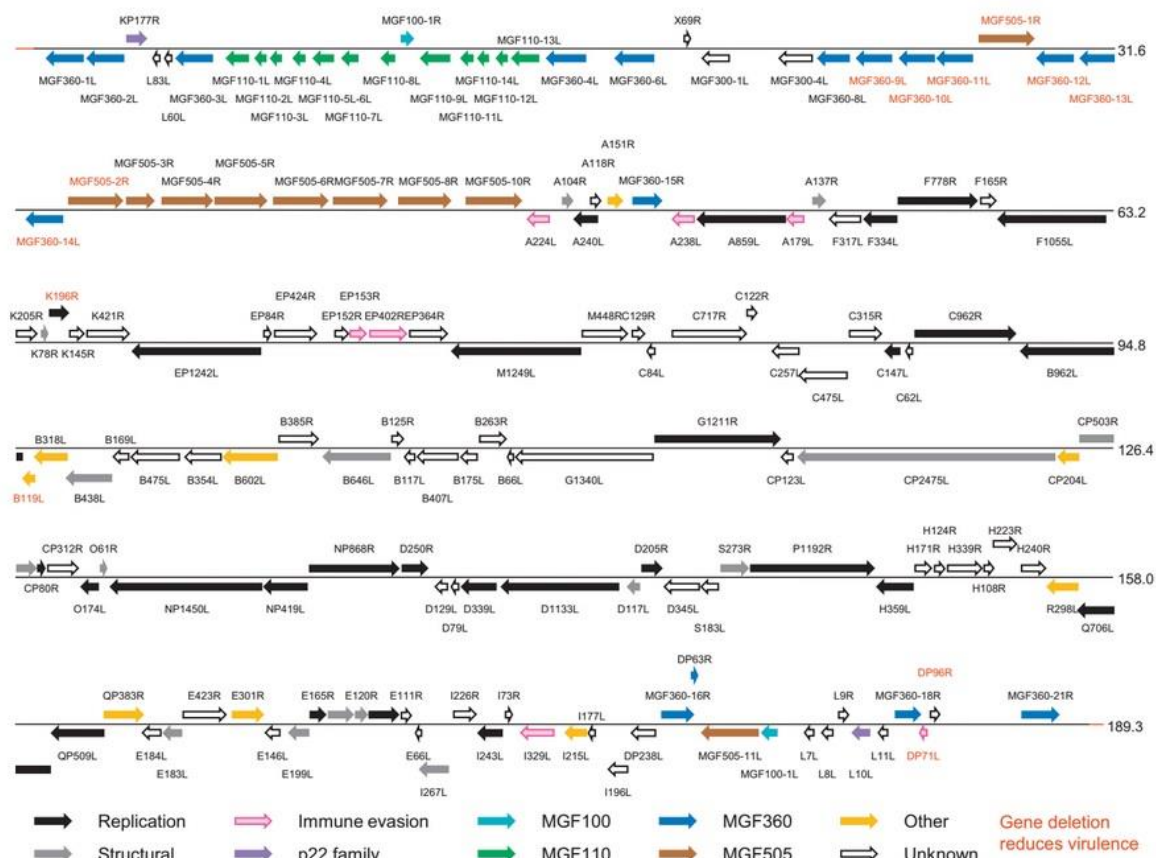
lisandumisest. (Dixon jt, 2013a). Oletatakse, et MGF 360 ja MGF 530 geenid on makrofaagi peremeesringi determinantideks (Zsak jt, 2001).

Viiruse poolt kodeeritud valgud, mis mõjutavad peremehe vastust ASFV infektsioonile hõlmavad apoptoosi inhibiitorite Bcl2 ja IAP homolooge. Mõlemad valgud inhibeerivad apoptoosi; IAP homoloog inhibeerib kaspas-3 aktiivsust. Kahe-funktsionaalne viiruse poolt kodeeritud valk A238L käitub nii peremehe transkriptsioonifaktori NFκB aktivatsiooni inhibiitorina kui ka peremehe fosfataas-kaltsineuriini inhibiitorina, surudes maha seega kaltsineuriin-sõltuvaid radu, nagu näiteks NFAT transkriptsioonifaktori aktivatsiooni. Nimetatud valk võib seetõttu inhibeerida paljude nendest faktoritest sõltuvate peremehe immunomodulatorsete geenide transkriptsioonilist aktiivsust nakatunud makrofaagides. (Dixon jt, 2013a).

Viiruse valgud j4R ja ubikvitiini konjugeeriv ensüüm interakteeruvad transkriptsioonis osalevate peremehe valkudega ja võivad samuti mõjutada peremehe geenitranskriptsiooni (Goatley jt, 2002; Bulimo jt, 2000). Viiruse valk EP402R, mis on sarnane peremehe T-adhesiooni valgule CD2, on vajalik erütrotsüütide seondumiseks viirusega nakatunud rakkudele ja arvatakse, et see vahendab EMVde adhesiooni erütrotsüütidele. EP424R valk stabiliseerib tõenäoliselt nakatunud rakkudes rRNA-d ning aitab vältida valkude sünteesi seiskumist. Viiruse kodeeritud C-tüüpi lektiin EP153R pidurdab MHC I klassi ekspressiooni ülesreguleerimist rakupinnal; samuti pidurdab see apoptoosi. Üks valk (erinevates isolaatides nimetusega kas NL-S, 114L või DP71L) on sarnane herpesviiruse poolt kodeeritud neurovirulentsuse faktorile ICP34.5 ja see võib toimida sigadele virulentsuse faktorina. (Dixon jt, 2013a).

ASFV genoomide nukleotiidjärjestuse võrdlev analüüs on näidanud, et ASFV on geneetiliselt äärmiselt mitmekesine. Peamist kapsiidivalgu p72 kodeeriva B646L geeni C-terminaalse piirkonna järjestuse põhjal on hetke seisuga identifitseeritud 22 ASFV genotüüpi (I–XXII). (Bastos jt, 2003). Alagruppide eristamiseks kasutatakse B602L ORFi sees asuva keskse varieeruva piirkonna (CVR, *central variable region*) või mitmete teiste geeniregioonide, nt p54 valgu kodeeriva E183L geeni või p30 valgu kodeeriva CP204L geeni järjestuste määramist. (Costard jt, 2013; Rowlands jt, 2008). Ka antigeenselt on viirus väga mitmekesine. Seroloogilise analüüsiga hemadsorptsiooni inhibitsiooni (HAI) meetodil on identifitseeritud kaheksa ASFV serogruppi (1–8) (**Joonis 5**). Malogolovkin jt (2015) võrdlesid antud serogruppe p72 genotüüpidega ning tulemused näitasid, et samasse p72 genotüüpi kuuluvad isolaadid võivad olla serotüüpiliselt heterogeensed. Seega traditsioonilise ASFV

genotüpeerimisega pole võimalik eristada erineva virulentsusega viirusi, mis teeb viiruse vastaste vaktsiinide väljatöötamise väga keeruliseks.



**Joonis 3.** ASFV Georgia2007/1 isolaadi genoomi organisatsioon. ORFid on kujutatud nooltena, et näidata nende suurust ja lugemise suunda. Värvidega on näidatud kindlaks tehtud funktsiooniga ORFid. Must värv tähistab ensüüme kodeerivaid ning genoomi replikatsioonis, parandamises ja transkriptsioonis osalevaid ORFe. Hall värv näitab struktuurvalke kodeerivaid ORFe. Roosa värv tähistab peremehe kaitsemehhanismide vältimises osalevaid valke kodeerivaid ORFe. Türkiisi, sinise, roheline, pruuni ja kahvatulilla värviga on näidatud MGFid. Teisi eeldatavate funktsioonidega valke kodeerivad ORFid on tähistatud kollase värviga. Teadmata funktsiooniga valke kodeerivad ORFid on näidatud valge värviga. Oranž tekst näitab ORFe, mille eemaldamine vähendab viiruse virulentsust. (Dixon jt, 2013a).

## 1.4 Elütsükkel

ASFV esmasteks sihtmärkrakkudeks on makrofaagid sidekoes, lümfisõlmedes, põrnas ja luudis ja teatud fibroblastide liinid (retikulaarrakud) põrnas, lümfisõlmedes, kopsudes, neerudes ja maksas (Zsak jt, 2001). *In vitro* tingimustes (koekultuuris) replitseerub viirus makrofaagides ja endoteeli rakkudes (Cann, 2001). ASFV sisenemine raku on retseptorvahendatud, kuid täpset endotsütoosi mehhanismi ei ole veel kirjeldatud – võimalike

mehhanismidena on välja pakutud nii klatriin-vahendatud endotsütoosi kui ka makropinotsütoosi (Alonso jt, 2013). Viiruse raku poolseks retseptoriks võib olla *scavenger*-retseptor CD163, kuna CD163 vastased antikehad inhibeerivad virionide seondumist makrofaagidele ning seega suruvad infektsiooni maha (Sanchez-Torres jt, 2003). Lisaks nimetatud sisenemisteedele võib ASFV puukide kesksõle epiteeli rakkudesse siseneda ka erütrotsüütidega seotult (Netherton jt, 2013). Pärast sisenemist liiguvad virionid läbi endosomaal-lüsoosomaalse kompleksi, kust nad vabanevad tsütoplasmasse. Kuidas see täpselt saavutatakse, ei ole teada, kuid antud protsess toimub happelisel pH-l. (Alonso jt, 2013). Viiruspartiklite transport perinukleaarsetesse replikatsioonikohtadesse toimub mikrotoobulite vahendusel ja selleks on vajalik ASFV p54 valgu ning mikrotoobulite mootorvalgu düneiini omavaheline interaktsioon (Netherton jt, 2013).

DNA replikatsiooniks vajalikud ensüümid ekspresseeruvad kohe pärast viiruse sisenemist tsütoplasmasse osaliselt lahti pakitud "*core*" osakestes. Varajaseks transkriptsiooniks kasutatakse viiruse poolt kodeeritud "*core*"-sse pakitud transkriptsiooni ja transkriptide protsessingu ensüüme. ASFV transkriptid modifitseeritakse 5'-*cap* struktuuri ja 3'-poly(A) saba lisamisega. (Alonso jt, 2013; Dixon jt, 2013). Viiruse replikatsiooni algfaas toimub tuumas. Viiruse maatriksi valgud ja DNA sisenevad tuuma ning arvatakse, et nende transpordis on oluline roll ASFV p37 valgul. (Ballester jt, 2011). Hetkehüpooteesi kohaselt sünteesitakse kõigepealt tuumas lühikesed DNA fragmendid, mis transporditakse seejärel tsütoplasma perinukleaarsetesse "viirusevabrikutesse" (*viral factories*), kus neid kasutatakse täispikkuses genoomse DNA sünteesi praimeritena replikatsioonitsükli hilisemates faasides. Seda toetab ka asjaolu, et küpsetes viiruspartiklites leiduv ASFV DNA pärineb nii tuumas kui ka tsütoplasmas sünteesitud fragmentidest. (Alonso jt, 2013). Viimased uuringud näitavad, et infektsiooni algfaasis põhjustab ASFV tuuma struktuuri muutumise, sh tuuma lamiinide fosforüleerumise ja demonteerumise ning tuuma valkude RNA polümeraas II, splaisingu kompartmentide markeri SC 35 ja tuumakesemarkeri B-23 ümberjaotumise nakatunud raku tsütoplasmasse. See võib olla mehhanismiks, kuidas ASFV muudab raku transkriptsiooni mustrit ja/või initsieerib viiruse DNA replikatsiooni. (Ballester jt, 2011). Alates 6 tundi pärast infektsiooni algust on tsütoplasmas märgatavad replikatsiooni intermediaadid, viiruse genoomse DNA "pea-peasse" konkatameerid. (Dixon jt, 2013).

ASFV genoomi struktuuri sarnasused poksviirustega ning replikatsiooni intermediaatide, viiruse genoomse DNA "pea-peasse" konkatameeride esinemine viitab, et ASFV võib jagada samasugust replikatsioonimudelit vaktiinia viirusega. Selle mudeli järgi algab replikatsioon rebendiga (ingl. k. *nick*) ühe genoomi ahela ühe või mõlema otsa lähedal. Paljastunud 3'OH grupp on praimeriks DNA polümeraasile ja DNA süntees jätkub genoomi

otste suunas. Selle tulemusel tekib intermediaat, kus sünteesitava ahela ja matriitsahela otsad on isekomplementaarsed ja voldivad tagasi, moodustades isepraimeruva juuksenõelstruktuuri. ASFV poolt kodeeritud oletatav DNA primaas (C962R) võib mängida rolli replikatsiooni initsieerimisel ja maha jääva DNA ahela sünteesil ja see on viinud poksviiruste kohandatud mudeli välja pakkumiseni. (Dixon jt, 2013a).

Konkatemeerid lõigatakse lahti valmis monomeerseteks genoomideks ja pakitakse “viirusevabrikutes” küpsetesse viiruspartiklitesse (Dixon jt, 2013a) ASFV genoomi kapsiidi pakkimise mehhanism ei ole selge. Elektronmikroskoopiaal on näidatud, et üks tsütoplasma võrgustikust pärit membraanikiht moodustab viiruspartikli sisemise ümbrise. Kuidas täpselt aga ASFV peremeesraku membraane värbab ja modifitseerib, ei ole teada. (Hawes jt, 2008). DNA hakkab kondenseeruma pronukleoidiks ja sisestatakse seejärel üksiktüüpist “tühja” partiklisse. Jätkuva viiruspartikli küpsemise, sh ikosaeedri kitsa avause sulgumise, tulemusena tekivad “intermediaarsed” partiklid, kus nukleoproteiin teeb läbi täiendava kondenseerumise, et tekiks tüüpilised küpsed virionid. (Dixon jt, 2013a). On näidatud, et pp220 polüproteiini, mis kodeerib suurt osa viiruse “core” kesta komponentidest, kodeeriva geeni ekspressiooni mahasurumine viib tühjade viiruspartiklite moodustumiseni ja väljumiseni (Andrés jt, 2002). Viiruse transpordis kokkupaneku kohtadelt plasmamembraanile osalevad kinesiinide perekonna mootorvalgud ja selleks on vajalik viiruse pE120R valk. ASFV indutseerib pikkade plasmamembraanist pärinevate aktiinifilamentide (filopoodiate) teket, mis võivad samuti võimaldada EMVde liikumist läbi plasmamembraani. Rakust välja pungudes moodustub tõenäoliselt peremeesraku plasmamembraanist viiruse väline lipiidümbris. (Andrés jt, 2001; Netherton jt, 2013).

## 2 SIGADE AAFRIKA KATKU EPIDEMIOLOOGIA

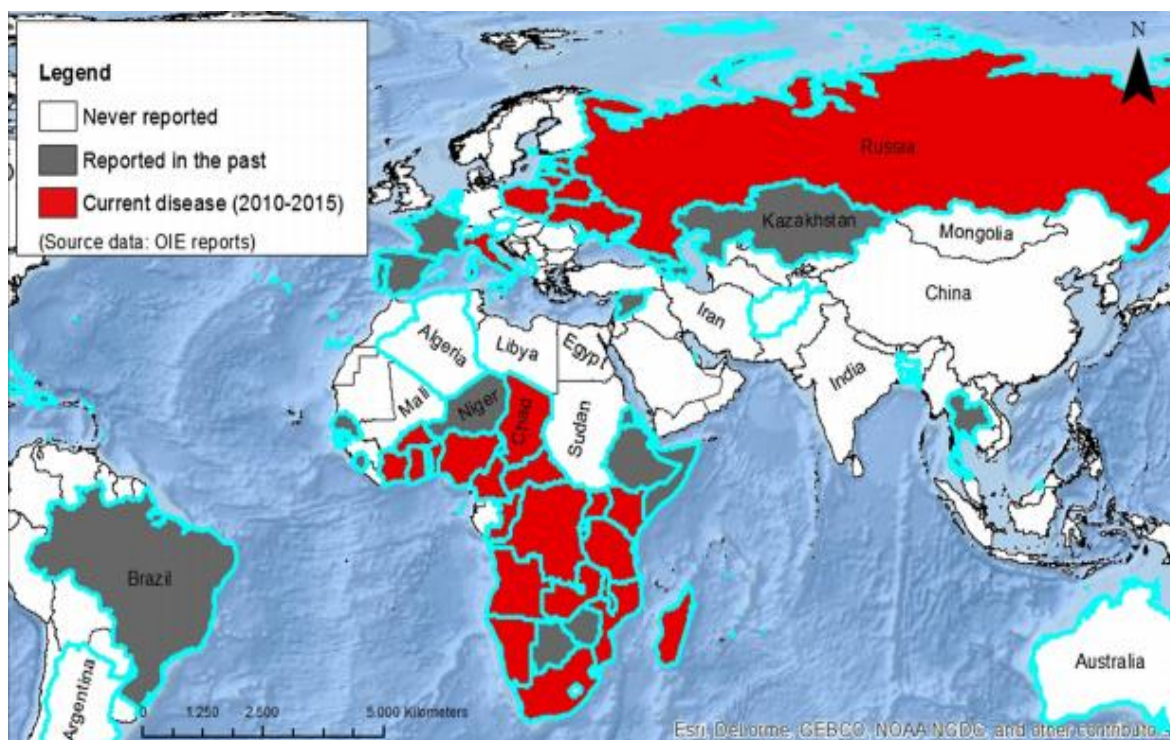
### 2.1 Tagataust ja geograafiline levik

ASFi kirjeldati esmakordselt 1920ndatel Keenias kui kodusigadel esinevat hemorraagilist palavikku, mis põhjustas sigadel pea 100%-list suremust. Märgiti, et haiguspuhangud esinesid kodusigade kokkupuutel eluslooduse liikidega, eriti tüügassigadega (*Phacochoerus africanus* ja *Phacochoerus aethiopicus*). Infektsiooni allikana identifitseeriti viirus, mida kandsid tüügassead, kuid mis ei põhjustanud viimastel mingisuguseid kliinilisi avaldumisi (Montgomery, 1921; ref. Costard jt, 2009 järgi).

Hetkel on ASF endeemiline enamikes Sahara kõrbest lõunasse jäävates (*sub-Saharan*) riikides. Haiguspuhangud said alguse Lõuna- ja Ida-Aafrikast ning levisid edasi nii Kesk- ja Lääne-Aafrikasse kui ka India ookeani saartele, sh Madagaskarile (1998) ja Mauriitsiusele (2007). (Costard jt, 2013).

Aafrikast väljapoole levis ASF esmakordselt 1957. a Portugali. Antud puhang likvideeriti, kuid 1960. a Lissabonis ASF taasilmumise järel levis haigus peatselt edasi ka Hispaaniasse (1960) ja teistesse Euroopa riikidesse nagu Prantsusmaa (1964), Itaalia (1967, 1969, 1983), Malta (1978), Belgia (1985) ja Holland (1986). ASFist puutumata ei jäänud ka Ameerika maailmajao riigid nagu Kuuba (1972, 1980), Brasiilia (1978), Dominikaani Vabariik (1978) ja Haiti (1979). (Gallardo jt, 2015). Kõikides ülalmainitud riikides õnnestus haigus ulatuslike tõrjeprogrammidega likvideerida, v.a Itaalias asuval Sardiinia saarel, kus haigus on endeemiline olnud alates selle ilmumisest 1978. a. (Sanchez-Vizcaino jt, 2013).

2007. a teatati ASF puhangust Gruusias. Haiguse tuvastamise viivitus viis selle laiaulatusliku levikuni naaberriikidesse, sh Armeeniasse (2007, 2010, 2011), Aserbaidžani (2008) ja Venemaale (2007). Teaduskirjanduses teatati ASF esinemisest metssigadel ka Aserbaidžaaniga piirnevas Iraani loodeosas. ASF mitte levimist Ida-Euroopa riikidest kaugemal idas asuvasse riikidesse seostatakse vähese kodusigade arvukusega nendes islamiusulistest riikides. 2012. a teavitati esimestest ASF puhangutest Ukrainas, millele järgnesid 2013. a puhangud Valgevenes (Sanchez-Vizcaino jt, 2013). Nendest riikidest levis ASF edasi, kuni jõudis 2014. a Euroopa Liidu piirialadele, kui leiti mitmeid surnud metssigu Leedus ja Poolas. Sellest alates on teatatud mitmetest puhangutest Eestis ja Lätis ning korduvatest puhangutest ka Leedus ja Poolas. (Sanchez-Vizcaino jt, 2015). ASF geograafiline levik maailmas on näidatud **Joonisel 4**.



**Joonis 4.** ASF geograafiline levik maailmas. Punasega on märgitud riigid, kus ASF esineb praegu (alates 2010. aastast kuni tänaseni). Halliga on märgitud riigid, kus ASF on esinenud minevikus ning valgega riigid, kus ASF pole esinenud. (Gallardo jt, 2015).

## 2.2 Peremeesring ja ülekandeteed

ASFV nakatab sigalaste (*Suidae*) sugukonna esindajaid. Nakatumisvõimeliste liikide hulka kuuluvad kodused, Euraasia metssead (*Sus scrofa scrofa*), tüügassead (*Phacochoerus* spp.), jõesead (*Potamochoerus larvatus* ja *Potamochoerus porcus*) ja laanesead (*Hylochoerus* spp.). Tüügassead ja laanesead, kellel ASF kulgeb tavaliselt asümpomaatiliselt, on viiruse looduslikeks reservuaarideks Aafrikas. (Costard jt, 2013). 1963. a tuvastati Hispaanias viiruse vektori ja veel ühe loodusliku reservuaarina pehme toesega puukide perekond *Ornithodoros erraticus* ning veidi aega hiljem tehti samasugune avastus ka *O. moubata*, *O. porcinus domesticus* ja *O. porcinus porcinus* puukide kohta Aafrikas. (Costard jt, 2009). ASF ei ole zoonoos, s.t ASFV ei ole võimeline nakatama inimest.

ASF ülekande võib toimuda nii ilma kui ka puukvektorite kaudu. Arvatakse, et pärast otsest kontakti viirusega (mitte puukide poolt siirutatud) siseneb ASFV organismi peamiselt ülemiste hingamisteede kaudu. Viirust on leitud kõigist haigete kodusigade sekreetidest ja ekskreetidest ning eriti suures kontsentratsioonis oronasaalses vedelikus (de Carvalho Ferreira

jt, 2012). Siiski esineb liigisiseseid erinevusi *Suidae* sugukonna piires. Nt võrreldes kodusigadega on täiskasvanud tüügassigadel esinev ASFV kontsentratsioon palju madalam. See tähendab, et täiskasvanud tüügassigadelt ei pruugi viirus otsese kontakti kaudu üle kanduda. (Gallardo jt, 2011). Kodusigade hulgas võib viirus levida ka aerosoolidena, kuid praegused tõendid näitavad, et see on võimalik ainult lühikeste vahemaade (maksimaalselt 2 meetri) tagant. Nakatunud sead on kõige ohtlikumad haiguse inkubatsiooniperioodis, kus nad võivad infektsioosilises doosis viirust eritada kuni 48 tundi enne kliiniliste sümptomite ilmnemist; ja haiguse kliinilises faasis, kus tohututes kogustes viirust leidub nakatunute veres, sekreetides ja ekskreetrides. (Penrith jt, 2009). Haiguse üleelanud sead võivad jääda viirusega püsivalt nakatunuks, ilma et neil esineks mingeid kliinilisi sümptomeid. Püsiva infektsiooni kestus ei ole teada, kuid madalas kontsentratsioonis viirust on sigade kudedes tuvastatud isegi üle aasta pärast kokkupuudet. (de Carvalho Ferreira jt, 2012).

ASFV pikaajalise püsimise tõttu surnud sigade veres ja kudedes võib ülekannet toimuda ka kuumutamata või ebapiisavalt kuumutatud nakatunud loomade kudesid sisaldavate toidujäätmete söötmisel tervetele sigadele. On teada, et viirus võib 4 °C juures säilitatud veres säilida 1,5 aastat, 3 °C juures säilitatud kondistatud lihas 150 päeva, soolatud kuivatatud sinkides 140 päeva ja külmutatud rümpades mitmeid aastaid (Motarjemi jt, 2014). Nakatunud sealiha või sealihasaadusi vedanud rahvusvahelistelt laevadelt pärinevate toidujäätmete sattumist kodusigade söögiks peetakse ka haiguse 2007. a Gruusiasse levimise kõige tõenäolisemaks põhjuseks. (Sanchez-Vizcaino jt, 2013). Loomakorjustes inaktiveerub viirus 2,5 kuuga, seega võib ka surnud loomade kannibalism olla üheks võimalikuks ülekandeteeks vabalt peetavatele kodusigadele või metssigadele (Alaots jt, 2006).

ASFV võib levida ka viirust sisaldava materjaliga saastunud esemete (allapanu, sööda, varustuse, riiete ja jalanõude, masinate) kaudu. (Penrith jt, 2009). Davies jt (2015) leidsid, et nakatunud kodusigade uriin ja väljaheited olid 4 °C juures infektsioosilised vastavalt kuni 8 ja 15 päeva ning 21 °C juures kuni 5 päeva. Pinnases inaktiveerub viirus 190 päevaga, mis seoses inimliikumisega haigusest mõjutatud aladel võib samuti olla potentsiaalseks infektsiooni allikaks. (Alaots jt, 2006).

Vektorvahendatud ülekannet toimub *Ornithodoros* spp. puukide hammustuste kaudu. Lõuna- ja Ida-Aafrikas tsirkuleerub viirus vastsündinud tüügassigade (*Phacochoerus africanus*) ja *Ornithodoros moubata* spp. pehme toesega puukide vahel, kelle elupaigaks on tüügassigade urud. Puukide vahel on näidatud transstadiaalse, transovariaalse ja seksuaalse ülekande olemasolu. Samasugune ülekandeteed esineb Aafrikas ka kodusigade ja nende aedikuid koliniseerivate *O. moubata* puukide vahel. *Ornithodoros erraticus* oli bioloogiliseks vektoriks ühe Pürenee poolsaarel aset leidnud puhangu ajal ning laboritingimustes on

nakatatud ka teisi *Ornithodoros* liike. *Ornithodoros* spp. puugid elavad kaua ja on näidatud, et ASFV säilib kolooniates mitu aastat (nt viis aastat *O. erraticus* puhul). Siiski on puukidel võimalik uue nakatumise mitte toimumise korral viirusest vabaneda. (Costard jt, 2013). Puuduvad tõendid, et kõva toesega puugid võiksid ASFV bioloogilisteks vektoriteks olla, küll aga on eksperimentaalsetes tingimustes näidatud, et pistekärbsed (*Stomoxys calcitrans*) võivad 48 tunni jooksul pärast nakatunud sea verest toitumist viirust mehhaaniliselt üle kanda. Kuna aga tegemist on väikeste kärbestega, siis tõenäoliselt kannaksid nad viirust üle pigem karja sees kui erinevate karjade vahel, kui neid just kogemata teise farmi ei transpordita (de Carvalho Ferreira jt, 2014; Mellor jt, 1987).

ASF puhangute riski tõstavad uuringute kohaselt sigade vabapidamine, haiguse eelnev esinemine farmis ning nakatunud farmi või tapamaja olemasolu naabruses. (Costard jt, 2013). Gulenkin jt (2011) leidsid, et ka teedevõrgu, veekogude ning kodusigade populatsiooni tihedus oli seotud Venemaal aset leidnud puhangutega. Kõige olulisemaks ASF leviku faktoriks peetakse aga nakatunud sigade liikumist – puhangu kahtluse korral suureneb ilma märgatavate sümptomitega sigade hädamüük, mis panustab haiguse levikusse kodusigade populatsioonides (Costard jt, 2015).

Euroopas seostatakse ASF puhanguid oluliselt ka Euraasia metssigade liikumisega, kuigi nende roll haiguse levikus ei ole lõpuni selge. On täheldatud, et kui ASF on juba kord metssigade populatsioonis endemseks muutunud, on teda sealt väga raske likvideerida. (Gogin jt, 2013). Eriti suur ASF ülekande risk on nakatunud metssigade ja kodusigade omavaheline kontakt välistingimustes peetavates farmides. Kuigi Euroopa suured seafarmid on rangete bioohutusmeetmetega paremini kaitstud, võivad ümbritsevat keskkonda saastavad ASFVga nakatunud metssead ja nende populatsioonide laienemine olla siiski tõsiseks infektsiooniohuks. (Gavier-Widen jt, 2015). Metssigade rolli kohta ASF ülekandes on hetkel saadaval üsnagi vastuolulist informatsiooni ning selle täpsemaks määratlemiseks on kindlasti vajalikud põhjalikumad epidemioloogia ja ülekande uuringud ASF kohta metssigadel.

### **2.3 Molekulaarne epidemioloogia**

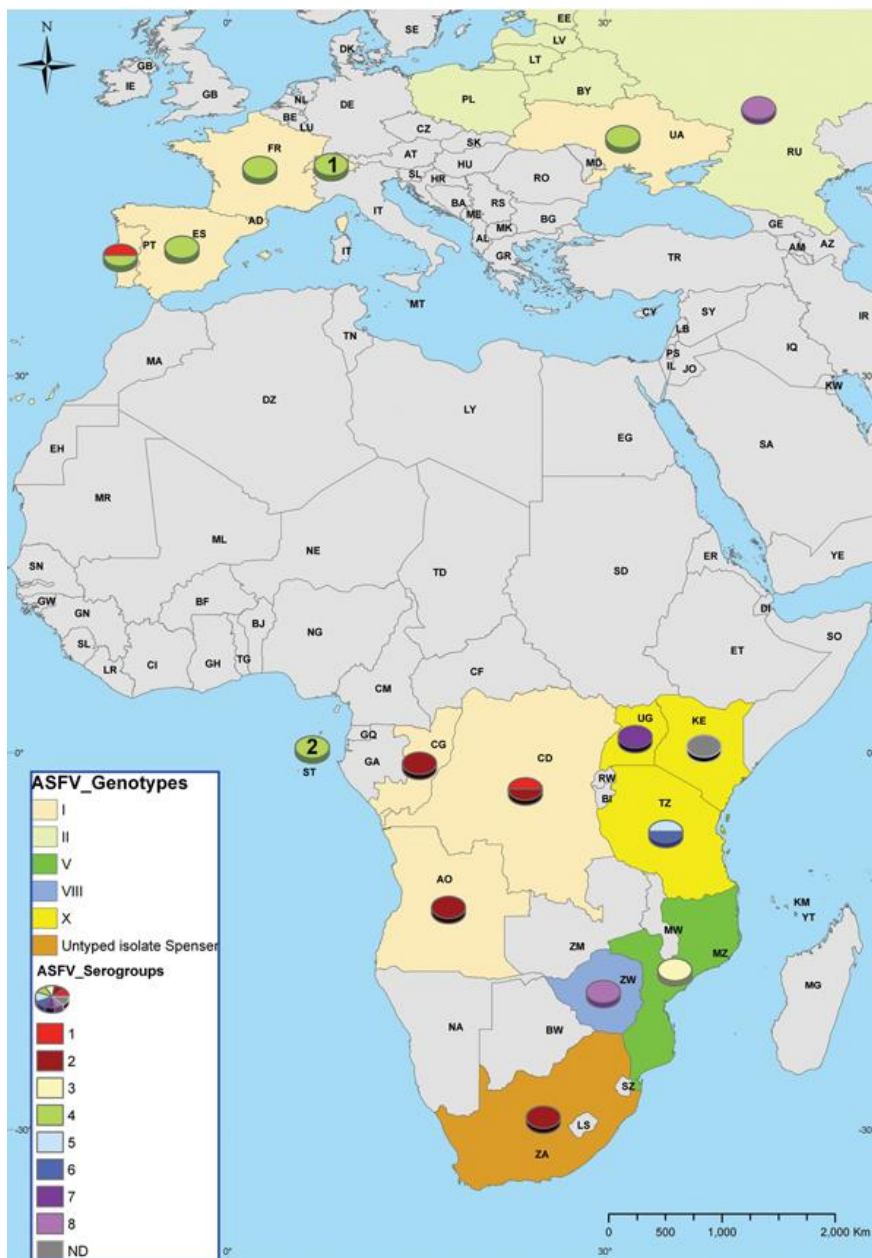
Molekulaarne epidemioloogia on osutunud kasulikuks nii ASF epidemioloogiliste mustrite uurimisel kui ka uutesse piirkondadesse levinud haiguse tõenäolise päritolu väljaselgitamisel. ASFV B646L geeni järjestuse osalise sekveneerimisega siinamaani identifitseeritud 22 genotüübist 20 esinevad ainult Ida- (13 genotüüpi) või Lõuna-Aafrikas (14 genotüüpi). (**Joonis**

5). (Gallardo jt, 2015). Mõned isolaadid tunduvad olevat riigispetsiifilised, samas kui teised esinevad piirkonniti.

Erinevalt Lõuna- ja Ida-Aafrikast kuuluvad kõik Lääne-Aafrika isolaadid genotüüpi I, kuigi hiljuti on näidatud ka mõningase grupisisese varieeruvuse olemaolu antud isolaatide hulgas. Sama genotüüp I esinemist on täheldatud ka tüügassigadel ja *O. moubata* spp. puukidel Ida- ja Lõuna-Aafrikas. 1957. a Portugalist isoleeritud isolaat Lisbon57 oli identne Lääne-Aafrika isolaatidega, kinnitades hüpoteesi, et viirus levis Portugali just Lääne-Aafrikast. Siiski on tuvastatud mõningane grupisisene varieeruvus Portugali puukidelt isoleeritud isolaatide vahel. (Costard jt, 2013).

Väljaspool Aafrikat oli genotüüp I esialgu ainus, mida oli isoleeritud ka Euroopas, Ameerikas ja Kariibidel. Hiljem Kaukaasias ja Venemaal puhkenud puhangute käigus tuvastati Euroopas esimest korda ka genotüüp II kuuluv viirus. Molekulaarne analüüs näitas, et Gruusia seakarju laastanud haiguspuhang oli tõenäoliselt pärit Ida-Aafrikast. (Rowlands jt, 2008). Hetkel kättesaadavad standardiseeritud genotüpiseerimise protseduuri kasutamisest tuletatud molekulaarsed andmed on näidanud ühe ainsa p72 genotüübi tsirkuleerimist Ida-Euroopas, viidates ühele infektsiooni allikale 2007. a. Hiljuti tuvastatud TRSe sisaldava geenidevahelise varieeruva piirkonna järjestuse sekveneerimisel põhineva kasuliku subgenotüpiseerimise kaudu aga on paljastatud kahe erineva genotüüp II variandi tsirkuleerimine Ida-Euroopa riikides alates 2012. a. (Gallardo jt, 2014a; Goller jt, 2015).

Ida- ja Lõuna-Aafrikas esinev geneetiline mitmekesisus viitab ASFV pikaajalisele evolutsioonile ning selektiivsele survele eluslooduse peremeestes. Viiruste stabiilsust Lääne-Aafrikas on tõlgendatud kui märki tüügassigade ja *O. moubata* spp puukide vahelise ülekande puudumise kohta. (Costard jt, 2009). Vähesese geneetilise varieeruvuse põhjuseks seal ja teistel mandritel võib olla selektiivse surve puudumine juhul, kui viiruse ülekandesse on kaasatud ainult kodusead või *O. erraticus* puugid, seda tõenäoliselt sellepärast, et nad ei ole ASFV algsed peremehed. Võib väita, et viiruse geneetilist varieeruvust võivad mõjutada ka koinfektsioonid erinevate isolaatidega, järgnev geneetilise materjali vahetamine ja viiruse evolutsioon, kuid tundub, et sellise koinfektsiooni tekke hoiavad ära erinevad mehhanismid. Asjaolu, et Ida-Aafrikas on genotüüp VIII viirust isoleeritud ainult kodusigadelt näitab, et kodusigade ülekandetsükkel võib nendes piirkondades esineda ka eluslooduse liikidest sõltumatult. (Costard jt, 2013).



**Joonis 5.** ASFV p72 genotüüpide ja HAI serogruppide levik maailmas. Riikide nimed on tähistatud Rahvusvahelise Standardiorganisatsiooni (ISO, *International Organization for Standardization*) poolt määratud kahetäheliste riigikoodidega. Joonisel on näidatud vaid osa ASFV genotüüpidest. (Malogolovkin jt, 2015).

### 3 KLIINILISED AVALDUMISED

ASF kliiniline kulg võib olla väga erinev – eristatakse üliägedat, ägedat, alaägedat, kroonilist ja asümptomaatilist haiguse vormi. Haiguse kulgu mõjutavad ASFV isolaadi virulentsus, infektsiooni ülekandete ja doos ning peremehe füsioloogiline seisund. Üliägedat ASF-i põhjustavad kõrge virulentsusega ASFV tüved ning sellele haiguse vormile on iseloomulikud kõrge palavik (41–42 °C), isukaotus, loidus, kiirenenud sügav hingamine ja naha punetus.

Sead surevad tavaliselt äkki 1–4 päeva pärast kliiniliste sümptomite ilmumist ning elundites ei esine märgatavaid kahjustusi. (Sanchez-Vizcaino jt, 2015).

Kõige sagedasemaks ASF esinemisvormiks on äge ASF, mida põhjustavad kõrge või mõõduka virulentsusega ASFV tüved. Tüüpiline kliiniline pilt kujuneb välja 2–7 päevase peiteperioodi järel ning seda iseloomustavad kõrge palavik, naha erüteem, mõõdukas söögiisu puudus ja leukotsüütide sisalduse langus veres. 1–2 päeva enne surma võib tekkida tsüanoos kõrvade, kõhu ja pärakuümbruse piirkonna nahale. Esinevad ka nekroosikolded nahas (rohkem iseloomulikud mõõduka virulentsusega tüvedega nakatumisele) ja nahaalused verevalumid. Võimalikud sümptomid on ka limaeritis ninast, ninaverejooks, oksendamine, alakõhuvalu ning kõhukinnisus või -lahtisus (sh veriroe). Tiinetel emistel esineb sageli nurisünnitusi ja mõningatel juhtudel võib just nende esinemine karjas olla esimene märk puhangust. 90–100% sigadest surevad seitsme päeva jooksul pärast palaviku teket. Iseloomulikeks kahjustusteks on oluliselt suurenenud hüperemiline tumelilla või must pude põrn ning oluliselt suurenenud lümfisõlmed (eriti mao, maksa ja neeru lümfisõlmed) ning nende säsi verevalumid. Esineb ka neerukoore ja -vaagna, kusepõie, südame sise- ja väliskelme ning kopsukelme täppverevalumeid. Kõrge virulentsusega tüvedega nakatumise korral on iseloomulikuks leiuks veel ka raske kopsuturse. (Blome jt, 2013; Gallardo jt, 2014b; Sanchez-Vizcaino jt, 2015). Ägeda ASF iseloomulik kliiniline pilt ja kahjustused on näidatud

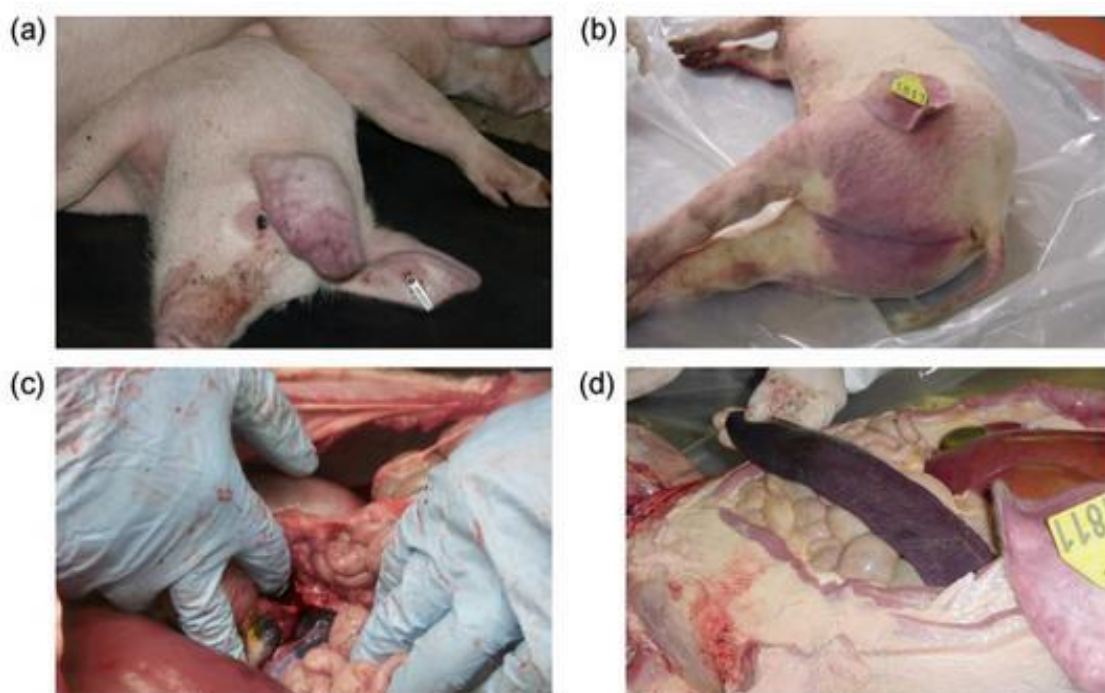
#### **Joonisel 6.**

Sagedasti esinevaks ASF vormiks on ka alaäge ASF, mis on põhjustatud mõõduka virulentsusega tüvede poolt. Selle peiteperiood on 10–20 päeva ning nakatunud loomadel esinevad haiguse ägeda vormiga sarnased kliinilised sümptomid, kuigi need kipuvad olema vähem väljendunud. Seevastu veresoonkonna-poolsed muutused nagu verejooksud ja turse on tõsisemad kui haiguse ägeda vormi puhul. Haiguse varajastes ja keskmistes staadiumites on täheldatud intensiivse, kuid mööduva trombotsüütide arvu veres vähenemisega seotud verejookse. Alaägeda vormi esimeseks sümptomiks on tavaliselt nurisünnituste esinemine. Nakatunud sead surevad üldiselt 7–20 päeva jooksul ning suremus varieerub 30–70% vahel. Ellujäänud sead taastuvad tavaliselt 3–4 nädala jooksul. Alaägedat ASFi põdevatel sigadel esineb mõõdukas kuni kõrge vahelduv palavik, vedeliku kogunemine kõhuõõnes ja südamepaunas ning sapipõie ja -teede ning neere ümbritseva piirkonna iseloomulik turse. Esineb ka põrna suurenemine, mis haiguse progresseerudes taandub. (Sanchez-Vizcaino jt, 2015).

Krooniline ASF on põhjustatud madala virulentsusega tüvede poolt. Selle haiguse vormiga nakatunud loomadel puuduvad spetsiifilised kliinilised sümptomid – tavaliselt esinevad nekrootilised kolded nahal ja liigeste põletik, kasvupeetus, kurtumine, lonkamine, hingamisraskused ja nurisünnitus. Erinevalt teistest ASF vormidest ei esine kroonilise ASF puhul veresoonekahjustusi, kuid samas esinevad bakteritest põhjustatud kahjustused nagu fibroosne kopsukelme põletik ja/või südamepauna põletik, kopsukelme liited, nekrootiline kopsupõletik ning samuti nekrootilised alad mandlitel ja keelel. Kroonilist vormi iseloomustab madal suremus. Faktorid, mis suurendavad suremust madalama virulentsusega isolaadiga nakatumisel on kaasuv haigus, noor iga ning tiinus. (Blome jt, 2013; Sanchez-Vizcaino jt, 2015; African..., 2004).

Madala doosiga viirusinfektsioon nakatumata farmis ei põhjusta esialgu kõrget suremust või tüüpilist kliinilist pilti peale palaviku ja hemorraagiliste lümfisõlmede esinemise. Viiruse ringluse kasvades tekib tavaliselt mõne päeva möödudes laiaulatuslikum infektsioon suurema suremusega ja iseloomulikute kliiniliste avaldumistega. (Sanchez-Vizcaino jt 2015).

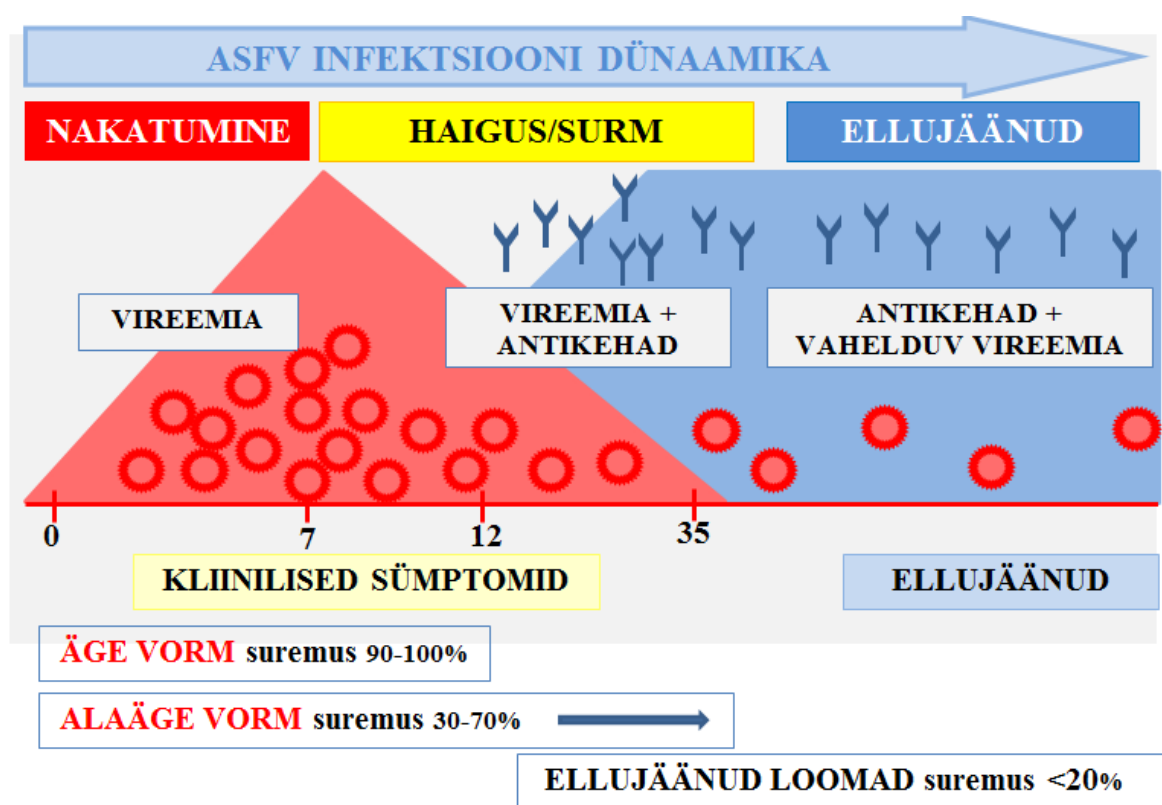
Euraasia metssigadel esinev ASF kliiniline pilt, kahjustused ja suremus on sarnased kodusigadega. (Blome jt, 2013).



**Joonis 6.** Tüüpilised ASF infektsiooni kliinilised avaldumised ja kahjustused: (a) punetus kõrvade piirkonnas; (b) verevalumid kehal; suurenenud ja verevalumitega (c) lümfisõlmed mao-maksa piirkonnas ja (d) põrn. (Oura jt, 2013).

## 4 DIAGNOSTIKA

Kiire ja usaldusväärne diagnostika on hädavajalik nii ASF levikut takistavate tõrjemeetodite õigeaegseks rakendamiseks kui ka haiguse eristamiseks teistest sarnase kliinilise pildiga sigade haigustest nagu nt sigade klassikaline katk (Sanchez-Vizcaino jt, 2015). ASFV ilmub verre mõned päevad pärast nakatumist. Madala virulentsusega isolaatide korral on tavaliselt võimalik ASFVd verest isoleerida alates 25. päevast pärast nakatumist. (African..., 2004). Ellujäänud sigadel esineb mitmeid vahelduva vireemia perioode ning viirust on püsivalt nakatunud sigade verest tuvastatud kuni 456 päeva pärast nakatumist (de Carvalho Ferreira jt, 2012; Gallardo jt, 2014). ASFV vastaseid antikehasid on praeguste testidega võimalik tuvastada alates 12.–14. päevast pärast nakatumist ning need säiluvad ellu jäänud sigades pikaks ajaks, mõnikord isegi terve eluea. (Gallardo jt, 2015). ASFV infektsiooni dünaamika on näidatud **Joonisel 7**.



**Joonis 7.** ASFV infektsiooni dünaamika. Ajaskaalaks on päevade arv pärast nakatumist. Antud joonis võtab kokku ASFV ja viiruse vastaste antikehade ilmumise verre pärast ASFV infektsiooni. Lisaks näitab see ka erinevate haiguse kliiniliste vormide (ägedast kuni alaägedani) ning samuti tervenunud loomade suremust. ASFV vastastest antikehad on tuvastavad pika aja jooksul pärast esmast kokkupuudet. (Gallardo jt, 2015; muudatustega).

ASF laboratoorse diagnostika meetodid jagunevad kahte gruppi: 1) testid viiruse vastaste antikehade tuvastamiseks; ja 2) viiruse isoleerimine ja testid viiruse genoomse DNA ning antigeenide detekteerimiseks (**Tabel 1**). Kasutatava meetodi valik sõltub laboratoorse diagnostika võimekusest konkreetses piirkonnas või riigis (OIE., 2012). ASF kahtluse korral tuleks laborisse saata nakatunud looma antikoagulandiga veri (EDTA), põrn, lümfisõlmed, maks ja mandlid. Transportimisel tuleks proovid säilitada jahedas (mitte külmununa) ning see on ka üheks sagedaseimaks troopilistes keskkondades ASF diagnoosimist takistavaks teguriks. (Oura jt, 2013).

**Tabel 1.** Hetke seisuga saadaval olevad valideeritud ASF diagnostika testid. Esimeses veerus on nimetatud testid ASFV vastaste antikehade tuvastamiseks. Teises veerus on testid viiruse isoleerimiseks ning viiruse ja selle DNA ning antigeenide detekteerimiseks. Tärniga on märgitud kommertsiaalsed testid. (Gallardo jt, 2015; muudatustega).

#### Hetke seisuga saadaval olevad valideeritud ASF diagnostika testid

Antikehade tuvastamise testid	Viiruse tuvastamise testid
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ELISA K3*</li> <li>• ELISA OIE</li> <li>• ELISA ID-VET*</li> <li>• ELISA-Svanova*</li> <li>• Ak <i>PENSIDE</i> test*</li> <li style="color: red;">Kinnitavad testid:</li> <li>• IB test</li> <li>• IPT test</li> <li>• IFA test</li> <li style="color: red;">* Kommertsiaalsed testid</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Viiruse isolatsioon/HAD</li> <li>• FAT (DIF) test</li> <li>• Antigeeni ELISA K2*</li> <li>• PCR Konventsionaalne-Aguero</li> <li>• UPL PCR</li> <li>• PCR Multiplex</li> <li>• PCR Tignon</li> <li>• PCR Tetracore*</li> <li>• Tetracore/ARS</li> </ul>

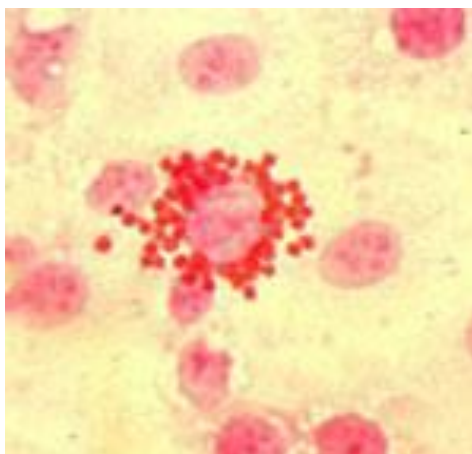
#### 4.1 Seroloogilised meetodid

Seroloogia on olnud laialt kasutusel ASF ohjamise ja tauditõrje programmides. Kuna ASFV vastane vaktsiin puudub, viitab ASFV vastaste antikehade olemasolu eelnevale infektsioonile. Järelikult sobib seroloogia potentsiaalsete haiguse kandjate loomade tuvastamiseks endeemilistes olukordades. Ensüümseotud immunosorbent analüüs (ELISA, *enzyme-linked*

*immunoabsorbent assay*) on üks enim kasutatavaid seroloogilisi teste, kuna seda saab laialt kasutada skriiningu eesmärgil. On olemas mitmeid ELISA teste – hetke seisuga kasutab Maailma Loomatervise Organisatsioon (OIE, *World Organization for Animal Health*) ühte valideeritud “*in-house*” ja ühte kommertsiaalset ELISAt, mis on väga kasulikud alaägeda või asümptomaatilise haiguse vormi diagnoosimisel; ägeda haiguse diagnoosimiseks antud testid ei sobi, kuna sead surevad juba enne antikehade teket (OIE., 2012). Antud meetodite puuduseks on ka kõrge bioturvalisuse nõue, kuna ELISA plaatide katmiseks antigeeniga kasutatakse infektsioonilist viirust. Kasutusel on ka rekombinantsetel antigeenidel põhinevad ELISAd, milles kasutatakse kas *E. coli* või putukarakkudes ekspresseeritud ASFV valke. Need ELISA testid on ohutumad; nad vähendavad tulemuste heterogeensust ning omavad ka kõrgemat tundlikkust ja spetsiifilisust. (Cubillos jt, 2013). Kinnitava analüüsina kasutatakse lisaks veel kaudset fluorestseeruva antikeha (IFA, *indirect fluorescent antibody assay*), immunoblotti (IB, *immunoblotting*) ja immunoperoksidaasi (IPT, *immunoperoxidase test*) teste. (OIE., 2012).

## 4.2 Viroloogilised meetodid

ASFV ning selle DNA ja antigeenide tuvastamiseks kõige sagedamini kasutatavad meetodid on hemadsorptsiooni testid (HAD), polümeraasi ahelreaktsioon (PCR) ja otsene immunofluorestsents. ASFVd on võimalik isoleerida verest ja teistest koeproovidest, sh põrnast, maksast, lümfisõlmedest ja mandlitest. HAD test (*hemadsorption assay*) põhineb faktil, et sea erütrotsüüdid adheeruvad koekultuuris ASFVga nakatunud sea monotsüütidele ja makrofaagidele – antud fenomeni nimetatakse hemadsorptsiooniks ning see esineb enamuse ASFV isolaatide (v.a mõned üksikud madala virulentsusega tüved) puhul (de Leon jt, 2012) (**Joonis 8**). Viiruse isolatsioon/HAD on ASF diagnoosimise kuldstandardiks ja vajalik haiguse esmaseks tuvastamiseks eelnevalt haigusest puutumata territooriumidel ja piirkondades. Kuna antud protsess on aga küllaltki töö- ja ajamahukas (negatiivse tulemuse kinnitamine võtab aega 6 päeva, ehkki tugevalt positiivse proovi korral on tulemus koekultuuris näha 24 tunni jooksul), siis kasutatakse seda tavaliselt ainult referentslaborites eelnevalt teiste meetoditega saadud tulemuse kinnitamiseks. (Oura jt, 2013; Sanchez-Vizcaino jt, 2015).



**Joonis 8.** ASFV hemadsorptsiooni reaktsioon (HAD) koekultuuri rakkudes. Sea erütrotsüüdid adheeruvad ASFVga nakatunud leukotsüütidele. (Euroopa Liidu sigade Aafrika katku (ASF) referentslaboratooriumi koduleheküljel).

PCR on hetkel kõige laiemalt kasutatav test viiruse geneetilise materjali (DNA) tuvastamiseks, kuna antud tehnoloogia on usaldusväärne, seda isegi halvasti säilitatud kudede puhul. On olemas konventsionaalsed ja reaaja PCR (rPCR, *real-time*) testid – mõlemad on OIE poolt valideeritud. (OIE., 2012). rPCR eeliseks konventsionaalsete PCRide ees on kiirus, tundlikkus, ristkontaminatsiooni võimaluse vähenemine (kuna tegemist on suletud süsteemiga) ja kvantitatiivse tulemuse andmine. Lisaks on antud meetodil kõrge tootlikkus, kuna samaaegselt on võimalik anlüüsida suurt arvu proove. Kättesaadavaks on muutumas ka kaasaskantavad rPCR masinad, mis võimaldavad antud molekulaarse tehnoloogia kasutamist “otse sündmuskohal” (*in the field*) ning mis oluliselt vähendaks ASF diagnoosimisel esinevaid viivitusi. Hetke seisuga on tootmises aga ainult üks kaubanduslikult saadaval olev rPCR kit ASFV genoomi tuvastamiseks (Tetracore R<sup>®</sup>, USA)(Oura jt, 2013).

Veel üheks viiruse tuvastamise testiks on otsene immunofluorestsents (DIF, *direct immunofluorescence assay*), mis on välja töötatud ASFV antigeenide tuvastamiseks äietes või nakatunud koelõikudes. Selleks konjugeeritakse ASFV-vastased antikehad fluorestseiniiga, mis võimaldab antigeenide olemasolu visualiseerida. (Oura jt, 2013) Antud test sobib ka ASFV antigeenide tuvastamiseks leukotsüütide kultuuris mitte-hemadsorbeeruvate viirustüvede korral (OIE., 2012). Viiruse antigeene on võimalik tuvastada ka antigeen-ELISA abil. Antud meetodi kasutamine on siiski soovitatud ainult haiguse ägeda vormi diagnoosimisel, kuna alaägeda ja kroonilise haiguse vormi korral on tundlikkus tunduvalt madalam. Seda tõenäoliselt seetõttu, et sea organismi enda antigeen-antikeha kompleksid nakatunud kudedes blokeerivad ASFV antigeeni ja diagnostilise ASFV-vastase konjugaadi vahelist interaktsiooni. (Oura jt, 2013).

## 5 ENNETAMINE JA TAUDITÕRJEMEETMED

ASF vastane ravi või vaktsiin hetkel puuduvad. Arvestades viiruse keerukust (ASFV kodeerib geene peremehe immuunvastuse vältimiseks) ei toimi ASFV puhul enamuse teiste patogeenide korral toimivad konventsionaalsed elus ja inaktiveeritud isolaatidel põhinevad vaktsiinid. On teada, et haigusest paranenud sead on edaspidi kaitstud lähedalt suguluses olevate isolaatide poolt põhjustatud infektsioonide eest. Osalise kaitse teket on täheldatud ka sigade nõrgestatud või madala virulentsusega isolaatidega vaksineerimisel. Antud info, koos saavutatud edusammudega viiruse molekulaarsete ja bioloogiliste omaduste ning kaitses osaleda võiva immuunmehhanismi uurimises, on viinud uute paljutõotavate vaktsiinidekandidaatide väljatöötamiseni. Hetke seisuga kõige paljutõotavamad strateegiad põhinevad tsütolüütiliste CD8+ T-rakkude ja antikehade vastuse stimuleerimisel, mis hõlmavad deleetsioonimutantide konstrueerimist virulentsetest või mõõduka kuni madala virulentsusega viirusisolaatidest, eemaldades viimastest nt replikatsioonis, virulentsuses, rakusiseses transpordis või immuunvastuse mõjutamises osalevaid geene. Antud vaktsiinikandidaadid on aga alles hindamise esimeses etapis ja on vajalikud edasised uuringud nende turvalisuse, kõrvaltoimete, potentsiaalse püsivuse ja “sünnuskohal” ülekande hindamiseks. (Dixon jt, 2013b; Zakaryan jt, 2016).

Vaktsiini puudumisel on ainsaks ennetusviisiks haiguse puhkemise vältimine. Erinevates Euroopa Liidu liikmesriikides (sh Eestis) koostatud ASF riskiprofiile saab kasutada teadlikkuse ja järelvalve tõstmiseks kriitilistes asukohtades/aegadel/ülekandeteedel. ASFst puutumata riikides sõltub ennetamine eelkõige rangest impordi poliitikast, tagades, et ei nakatunud elussead ega ka sealihasaadused ei satuks haigusest vabadesse piirkondadesse. See hõlmab nõuetele vastavalt haiguspuhangu ala külasthanud lennukite, laevade ja masinate jäätmete hävitamist (Programme..., 2014). Haiguse puhkemise riski vähendamiseks on samuti hädavajalik bioohutusnõuete (**Lisa 2**) karmistamine ja nende järgimise kontroll. (Guidelines..., 2014)

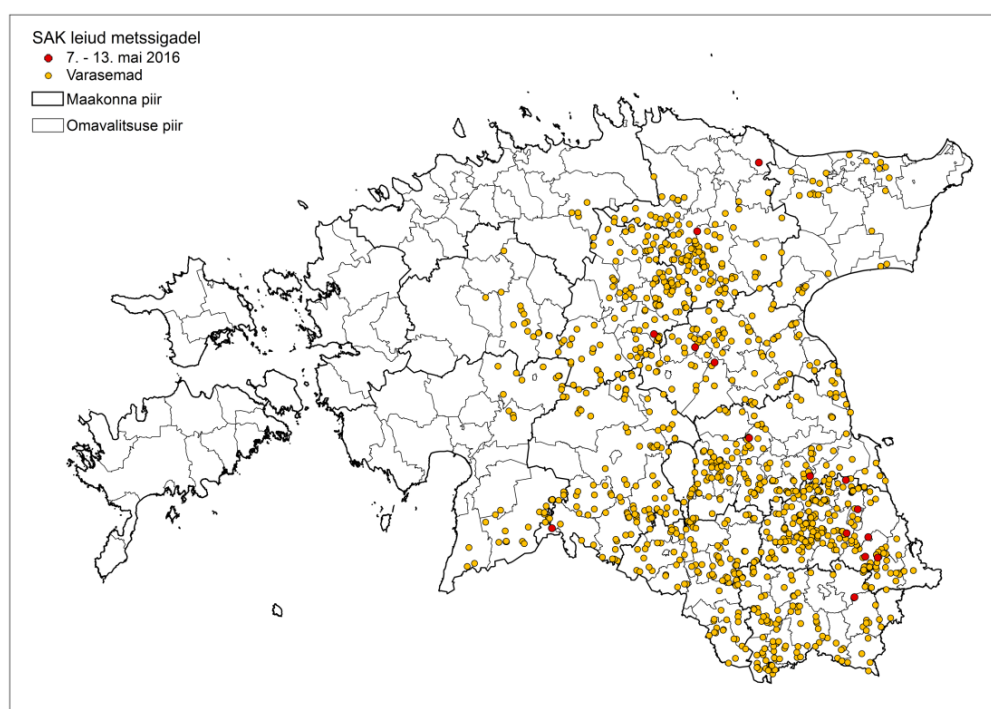
Samuti on ülioluline hea ASF varajase tuvastamise süsteemi olemasolu, mis hõlmab teadlikkuse tõstmist loomaarstide ja seakasvatavate hulgas, andes neile uuendatud infot riskide kohta. ASF kohta käivat põhiinfot (ülekandeteed, vallandumise vältimine ning kliinilised avaldumised) tuleks käsitleda infovoldikutes, plakatitel jt infokampaaniates. Selliselt on võimalik vältida haiguse hilinenud tuvastamist „sünnuskohal“. Tulenevalt sellest, et “sünnuskohal” esineva haiguse kliiniline pilt ei pruugi alati olla tüüpiline, peaks igat kõrge riski piirkonnas asuvat kõrge palavikuga surnud siga analüüsima ASF suhtes, avastamaks

haigus võimalikult vara ja vältimaks plahvatuslikku infektsiooni levikut. (Sanchez-Vizcaino jt, 2015).

Kõik edukad ASF tõrjeprogrammid on sisaldanud haiguse kiiret diagnoosimist, nakatunud farmides kõikide loomade hukkamist ja laipade hävitamist, sellele järgnevat põhjalikku puhastust ja desinfektsiooni (vajadusel ka desinseksiooni) ning elussigade ja sealihaproduktide liikumise kontrolli ja järelvalvet (Programme., 2014). Metssigade rolli tõttu ASFV ülekandes rakendatakse Euroopa Liidus täiendavate tõrjemeetmetena ka metssigade diagnostilise analüüsimise suurendamist ning puhvertsoonide loomist suunatlusega metssigade asustustiheduse vähendamiseks ja nende piiriületuse võimaluste piiramiseks. (Gavier-Widen jt, 2015).

## 6 ASF EESTIS

Eestis diagnoositi esimene ASF juhtum 8. septembril 2014. a, kui Hispaania referentslabor kinnitas viiruse isoleerimist Valgamaal 6 km kaugusel Lāti piirist surnult leitud metssealt. Veidi hiljem tuvastati ASFV nakkus ka ühel Ida-Virumaal hukkunud metsseal (Maaeluministeeriumi kodulehekülj). Kui Lõuna-Eestisse levis haigus arvatavasti metssigade vahendusel Lätist, siis Kirde-Eestis avastatud nakkus pärines tõenäoliselt ida poolt. (Oja jt, 2015). Haiguse laiaulatusliku leviku tulemusena oli 2016. a alguseks Eestis kokku juba 26 metssigade Aafrika katku taudistunud ala (11 maakonda); positiivseid leide pole siiani tuvastatud ainult Saare, Hiiu, Lääne ja Harju maakonna metssigadel (**Joonis 9**) (Maaeluministeeriumi kodulehekülj). Veterinaar- ja toiduameti (VTA) andmetel uuriti aastatel 2014–2015 kokku 10 618 metssiga ja neist 1168 (11%) olid ASFV positiivsed (Veterinaar- ja toiduameti kodulehekülj). 09.05.2016 seisuga käesoleval aastal on ASF tuvastatud ligi 700-l hukkunud või kütitud metsseal (**Joonis 10**). (Maaeluministeeriumi kodulehekülj). Endiselt kõrge positiivsete leidude arv Eesti metssigadel näitab, et ASF on siinsetes metsseapopulatsioonides jätkuvalt tõsine probleem.



**Joonis 9.** ASF leidud metssigadel omavalitsusüksuste kaupa (2016. a 13. mai seisuga). (Maaeluministeeriumi kodulehekülj).

Esimesed ASF juhtumid Eesti kodusigadel diagnoosis VTA 21. juulil 2015. a Viljandimaal ja Valgamaal asuvates seafarmides. Järgneva kahe kuu jooksul tuvastati taudi

veel lisaks juba nimetatud maakondadele vastavalt esmakordse diagnoosimise järjekorras ka Järva, Tartu, Lääne-Viru, Jõgeva ja Võru maakonna seafarmides; viimane ASF leid kodusigadel diagnoositi 25. septembril 2015. a ühes Võrumaa seafarmis. (Maaeluministeeriumi kodulehekülj). Taud puudutas ühtemoodi nii väikepidajaid kui ka suuri tootmisfarme: registreeritud 18 seakatku puhangust 6 juhtumit leidsid aset väikepidamistes (1–15 siga), 5 juhtumit keskmise suurusega seafarmides (100–500 siga) ja 6 juhtumit suurtes seafarmides (1100–6500 siga). (Viltrop, 2016a).

2015. a suvel ja sügisel Eesti Maaülikooli ja VTA koostöös läbi viidud epidemioloogilise uuringu ASF tõenäoliste nakatumisteede välja selgitamiseks Eesti koduseakarjades järgi põhjustasid 18 seakatku puhangust farmides 11 (61%) ilmselt eksimused bioohutusnõuete täitmisel, kus ASFV sattus farmi tõenäoliselt töötaja jalanõude, rõivaste või laudainventariga; 6 juhul oli arvatavasti tegemist haigustekitajaga saastunud allapanu või sööda kasutamisega ning ühel juhul saastunud haljassööda kasutamisega. (Viltrop, 2016a). Peaaegu kõik taudipuhanguid koduseafarmides toimusid metssigade taudistunud aladel ning puhangute arv koduseakarjades maakonniti oli tugevas seoses diagnoositud haigusjuhtude arvuga metssigade hulgas – samas peeti otsest kontakti metssigadega puhangute põhjusena ebatõenäoliseks ning arvatavasti oli tegemist looduses suurtes kogustes leiduva viiruse kaudse ülekandega farmi. (Faktileht:..., 2016).

ASF tõrjemeetmed metssigade hulgas olid enne haiguse tuvastamist kodusigadel suunatud metssigade oma territooriumil paiksena hoidmisele. Haigusesse surnud leitud metssigade korjused kõrvaldati loodusest jahimeeste abil. Alles 2015. a augustis, kui haigus oli levinud juba mitmetesse Eesti koduseafarmidesse, otsustati, et taudi tõrjumiseks on vajalik ka Eesti metssigade arvukust oluliselt vähendada. Metssigade arvukuse efektiivsemaks vähendamiseks hakati ka alates jaanuarist 2016. a esmakordselt maksuma jahimeestele kompensatsiooni suguküpsete metsseaemiste küttimise eest. (Sigade Aafrika katku leviku..., 2016). Vaadates aga kasvõi sel aastal diagnoositud kõrget ASF positiivsete leidude arvu metssigade hulgas on autorile jäänud mulje, et siia maani ei ole metssigadel rakendatavad ASF tõrjemeetmed Eestis eriti edukad olnud. Jääb ainult loota, et tuleviku uuringud ASF epidemioloogia ja ülekande täpsustamiseks metssigade hulgas annavad vastuseid, mis aitavad haiguse esinemist Eesti metssigade populatsioonis likvideerida või vähemalt oluliselt vähendada.

Pärast ASF ilmnemist ja laiaulatuslikku levimist Eesti metssigade hulgas ning enne puhanguid koduseakarjades karmistati ka seakasvatustevõtetele ja majapidamistele kehtivaid bioohutusnõudeid. Seoses vallandunud puhangutega kodusigadel kehtestati

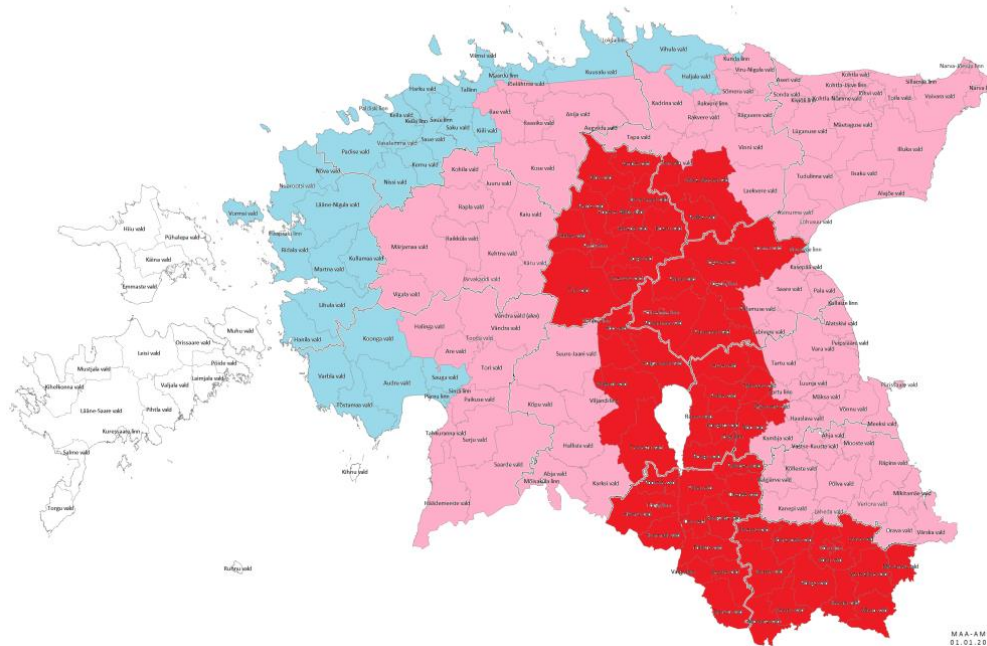
septembris 2015. a Eesti territooriumil sigade väljaspidamise täielik keeld, farmi territooriumi tarastamise nõue ja veel mitmeid teisi täiendavaid bioohutusnõudeid. Augustis 2014. a (pärast ASF diagnoosimist Lätis Eesti piiri lähedal mets- ja kodusigadel) ja augustis 2015. a viidi läbi VTA lauskontroll kõikidele seapidajatele, sh bioohutusnõuete täitmise järgimise kontrollimiseks, ning on väga positiivne, et 2016. a jaanuaris avaldatud VTA järelkontrolli andmetel peetakse 99% Eesti sigadest bioohutusnõuetele vastavates farmides. (Sigade Aafrika katku leviku..., 2016).

Maaülikooli ja VTA epidemioloogilise uuringu põhjal viitab ASF puhangute esinemine kodusigadel senimaani ainult suvekuudel (juulist-septembrini) kodusigade nakatumise hooajalisusele ja seda võib põhjendada metssigade suurema liikuvuse ja inimtegevuse intensiivistumisega metssigade liikumisaladel antud ajaperioodil (Faktileht:..., 2016). Seega, koosmõjus jätkuvalt kõrge ASF positiivsete leidude arvuga Eesti metssigadel, on ka tuleval suvel suur oht uuteks haiguspuhanguteks koduseafarmides ning antud stsenaariumit on tõenäoliselt võimalik vältida ainult seakasvatajate poolt eriti hoolsa bioohutusmeetmete järgimisega. Bioohutusnõuete illustreerimiseks ja paremaks mõistmiseks on Maaeluministeriumi ja VTA koostöös valminud ka plakat “Bioohutus farmis sigade Aafrika katku vältimiseks”, mis on näidatud **Lisas 2**.

Eesti riigi kompetentsust ASF tõrjeks näitab autori arvates ka see, et teadlikkuse tõstmiseks ning seakasvatajatele ja jahimeestele uuendatud info edastamiseks on üle Eesti korraldatud mitmeid sigade Aafrika katku infopäevi. Avaldatud on sigade Aafrika katku teemalisi infovoldokuid, plakateid ja õppevideosid. Kogu sigade Aafrika katkuga Eestis seonduv informatsioon on koondatud veebileheküljele <http://www.agri.ee/seakatk> ning edumeelse infotehnoloogia riigina edastatakse kiireteid seakatkest ka suhtlusportaali Twitter kaudu. Hästi tundub organiseeritud olevat ka VTA laboratooriumi tegutsemine, kes küttime intensiivistumisega seotud suurema arvu kütitud metssigade proovide kiire analüüsimise tagamiseks tõstis ka oktoobrist 2015. a enda võimekust.

Loomulikult oli ASF puhangutel laastav mõju Eesti seakasvatusele. Taudipuhangute tõttu hukati üksnes 2015. a juuli-september 22 000 kodusiga ning 2016. a prognoositi seakarja vähenemist võrreldes 2014. a seisuga ligi 30% 250 000 seani (Sigade Aafrika katku mõju..., 2015). Lisaks on Euroopa Komisjon kehtestanud Eestis sigade Aafrika katku kitsendustega tsoonid, mis on seotud loomade ja loomsete saaduste kauplemise piirangutega ning mille eesmärk on vältida haiguse levikut teistesse riikidesse. (**Joonis 10**). “Seakatku mõju ettevõtjatele (sh söödatööstusele) müügikäibe languse ja lisakuludena ulatus uuringu järgi mullu 7 miljoni euroni ja sel aastal prognoositakse selle kasvumist 36 miljoni euroni.“ (Mikovitš, 2016). Ettevõtjatest on sigade Aafrika katku tõttu kõige suuremat majanduslikku

kahju Eestis kannatanud seakasvatajad (eriti need, kes sattusid III tsooni) ja sidusussektorist söödatootjad. (Sigade Aafrika katku mõju., 2015).



**Joonis 10.** Sigade Aafrika katku kitsendustega tsoonid (kehtestatud 29. märts 2016). Hall joon - haldusüksuse piir. Sinine ala - I tsoon (puhverala). Helepunane ala - II tsoon (seakatku diagnoositud metssigadel). Tumepunane ala - III tsoon (seakatku diagnoositud ka kodusigadel). (Maaeluministeeriumi koduleheküljel).

Eestis leviva ASFV molekulaarsete omaduste kohta on vähe teada. 30.08.2015 Eesti Maaülikoolis toimunud sigade Aafrika katku konverentsil esinenud Maaülikooli veterinaarepidemioloogia professor Arvo Viltrop kirjeldas, et Eestis tuvastatud ASFV isolaat/isolaadid on mõõduka kuni kõrge virulentsusega ning põhjustab/põhjustavad kas ägedat või alaägedat haigust. Hetke seisuga pole kirjanduses avaldatud veel aga ühtegi selleteemalist teadusartiklit. ASF puhangute paremaks mõistmiseks ning uute puhangute ennetamiseks on käimas või planeeritud mitmed uuringud nii Eestis, Lätis, Leedus kui ka Poolas. Eestis kuuluvad nende hulka ASF riskiuuringud, piirkonnas leviva ASF molekulaarse epidemioloogia välja selgitamine ja loomkatse Kirde-Eestis isoleeritud ASFV tüvega; samuti metssigadelt mitteinvasiivselt proovide kogumine, putukvektorite rolli infektsiooni levikus välja selgitamine ning metsseakorjaste ja keskkonna saastumise rolli haiguse säilitamisel metssigade populatsioonides välja selgitamine. (Viltrop, 2016b).

## KOKKUVÕTE

Sigade Aafrika katk (ASF) on hetkel endeemiline Aafrikas, Madagaskaril ja Itaalias Sardiinia saarel. 2007. a toimunud ASF ülekanne Ida-Aafrikast Gruusiasse ja selle hiline tuvastamine viis haiguse laiaulatusliku levikuni naaberriikidesse ning alates 2014. a ka Baltimaadesse. ASFV nakatab kodu- ja mets sigu ning viiruse vektoriks ja bioloogiliseks reservuaariks on ka *Ornithodoros* spp. puugid. Ülekanne võib toimuda otsesel kontaktil nakatunud loomadega, kaudsel kontaktil esemete ja pindade kaudu ja ka puukvektorite vahendusel. Euroopas seostatakse puhanguid ka Euraasia metssigade liikumisega, kuid nende roll viiruse ülekandes vajab veel täpsustamist.

Haiguse levinuim esinemisvorm äge ASF avaldub ägeda hemorraagilise palavikuna, koos naha erüteemi ja tsüanoosiga. Iseloomulike patoloogilisteks leidudeks on suurenenud põrn ja lümfisõlmede verejooksud. Sigade haigestumus ning suremus võib ulatuda 100%-ni. ASF laboridiagnostikas kasutatakse nii viroloogilisi meetodeid ASFV ja selle DNA või antigeenide tuvastamiseks kui ka seroloogilisi meetodeid ASFV vastaste antikehade detekteerimiseks. ASF vastane vaktsiin hetkel puudub, kuid uued arengud molekulaarses uurimises on andnud lootust, et efektiivse vaktsiini väljatöötamine on võimalik. Seni põhineb ennetamine aga täielikult haiguse puhkemise vältimisel. Rangete bioohutusmeetmetega, mis tekitavad barjääri viiruse ja kodusigade vahel, on võimalik infektsiooni ennetada.

2015. a Eesti seafarmides alanud ASF puhangutest üle poole seostatakse puuduliku bioohutusnõuete täitmisega. Otsest kontakti metssigadega nakatumise põhjusena peetakse ebatõenäoliseks – puhangute põhjustajaks oli arvatavasti inimese kaasabil seafarmidesse sisse toodud looduses leidub ASFV. Haiguse hooajalisuse ja jätkuvalt kõrge positiivsete leidude arvu tõttu metssigade seas on ka tulevalt suvel suur oht uuteks ASF puhanguteks Eesti koduseafarmides ning seega on eriti oluline taudi sisenemist vältivate bioohutusnõuete hoolas täitmine.

Tuleviku perspektiivide alla kuuluvad kindlasti jätkuv ASFV molekulaarsete omaduste uurimine ja sellest johtuvalt ka efektiivse ASF vastase vaktsiini või ravi välja töötamine. Vajalikud on täiendavad uuringud ka ASF epidemioloogia, ülekande ja kliinilise kulu paremaks mõistmiseks. Põhjalikud ja kõiki osapooli kaasavad tauditõrjeprogrammid aitavad haiguse levikut kontrolli all hoida ning puhangutest tulenevaid majanduskahjusid vältida. Käesolev bakalaureusetöö võiks autori arvates olla heaks ülevaatlikuks õppematerjaliks Eesti Maaülikooli veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse eriala üliõpilastele ning ka teiste ülikoolide nt bioloogia eriala üliõpilastele. Huvitavat ja kasulikku võivad enda jaoks antud tööst leida ka Eesti seakasvatajad ja jahimehed.

# AFRICAN SWINE FEVER VIRUS

Marily Meldre

## SUMMARY

The current bachelor thesis is about African swine fever virus (ASFV) and the disease caused by it. Its aim is to describe the virus characteristics and also the epidemiology, transmission, clinical signs, laboratory diagnosis, prevention and control measures of African swine fever (ASF), with a particular emphasis on the epidemiology and diagnostics of the disease. The topic is currently very actual in Estonia because from 2015 the country has been battling with ASF outbreaks in both domestic pigs and in wild boars. In the last section the author also gives a brief overview of the current epidemiological status and control measures of ASF in Estonia based on the sources that were accessible to the author at the time of writing this thesis.

ASF is currently endemic in Africa, Madagascar and on the island of Sardinia in Italy. A transcontinental transmission of ASF from East Africa to Georgia in 2007 and the late detection of the virus resulted in a widespread transmission to neighbouring countries and also to eastern part of the European Union including Baltic countries in 2014. ASFV infects domestic and wild pigs and soft ticks from *Ornithodoros* spp. act as a vector and additional biological reservoir of the virus. Transmission can take place through direct contact with infected pigs, through indirect contact with fomites and also through tick bites. In Europe the outbreaks are also associated with the moving of infected wild boar, but their role in ASFV transmission is not yet fully understood.

The most common form of ASF is acute ASF which presents itself as hemorrhagic fever with skin erythema and cyanosis. The characteristic pathological lesions are a very enlarged spleen and hemorrhages of the lymph nodes. The morbidity and mortality of pigs can reach up to 100%.

In ASF laboratory diagnostics both virological methods to detect the virus and the viral DNA, and serological methods to detect the virus' antibodies, are used. Since ASFV antibodies develop about 12–14 days post infection, the most reliable methods for diagnosing acute cases of ASF are PCR (polymerase chain reaction) techniques. Moreover, since the disease doesn't always present itself with typical clinical signs, every dead animal with high fever in a high risk area should be analyzed for ASF.

New developments in molecular research have given promise that the development of an effective ASF vaccine is possible. The most promising strategy is based on identifying genes whose deletion may result in the reduction of the virus' virulence and increase of the

host immune response. Until then, prevention is totally based on the prevention of the contact between the virus and the suspected host. With strict biosecurity measures, which create a barrier between the virus and the domestic pigs, it is possible to prevent the disease.

The first cases of ASF in Estonian wild boar were diagnosed on September 2014 and in Estonian domestic pigs on July 2015. Approximately 22 000 domestic pigs were slaughtered because of the outbreaks and the economic losses exceeded many millions of euros and are still growing although the last incident of ASF in domestic pigs took place on September 2015. Following epidemiological research showed that more than half of the 2015 ASF outbreaks in Estonian domestic pigs were associated with nonefficient employment of biosecurity measures. Transmission through direct contact with wild boar was thought to be unlikely and the virus reached farms possibly from nature with the help of human movement. As of May 2016 ASFV has been diagnosed in almost 700 dead or hunted wild boars in Estonia. This continuing high positive finding rate in wild boars is a concern that new ASF outbreaks in domestic pigs can occur and therefore it's particularly important to ensure that all pig farms follow strict biosecurity measures.

## KASUTATUD KIRJANDUS

**Alaots, J., Saar, T., Viltrop, A.** (2006). Eriepizootoloogia. Halo kirjastus:Tartu.

**Alonso, C., Galindo, I., Cuesta-Geijo, M.G, Cabezas, M. Hernaez, B., Munos-Moreno, R.** (2013). African swine fever virus-cell interactions: From virus entry to cell survival. *Virus Research*; 173 (1):42–57.

**Andrés, G., García-Escudero, R., Viñuela, E., Salas, M.L, Rodríguez, J.M** (2001). African Swine Fever Virus Structural Protein pE120R Is Essential for Virus Transport from Assembly Sites to Plasma Membrane but Not for Infectivity. *J.Virol.*; 75(15):6758–6768.

**Andrés, G., Garcia-Escudero, R., Salas, M.L, Rodriguez, J.M** (2002). Repression of African swine fever virus polyprotein pp220-encoding gene leads to the assembly of icosahedral core-less particles. *Journal of Virology*; 76(6):2654–2666.

**Ballester, M., Rodríguez-Cariño, C., Pérez, M., Gallardo, C., Rodríguez, J.M, Salas, M.L, Rodriguez, F.** (2011). Disruption of nuclear organization during the initial phase of African swine fever virus infection. *J. Virol.*; 85(16):8263–8269.

**Bastos, A.D, Penrith, M.L, Crucière, C., Edrich, J.L, Hutchings, G., Roger, F., Couacy-Hymann, E., Thomson, G.** (2003). Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterisation. *Arch. Virol.*; 148(4):693–706.

**Blome, S., Gabriel, C., Beer, M.** (2013). Pathogenesis of African swine fever in domestic pig and European wild boar. *Virus Research*; 173:122–130.

**Bulimo, W.D, Miskin, J.E, Dixon, L.K** (2000). An ARID family protein binds to the African swine fever virus encoded ubiquitin conjugating enzyme, UBCv1. *FEBS Letters*; 471(1):17–22.

**Cann, A.J** (2001). Principles of Molecular Virology (Standard Edition). Lippincott Williams & Wilkins:Philadelphia.

**Colson P., Gimenez, G., Boyer M., Fournous G., Raoult D.** (2011). The Giant *Cafeteria roenbergensis* Virus That Infects a Widespread Marine Phagocytic Protist Is a New Member of the Fourth Domain of Life. *PLoS ONE*; 6(4):e18935. doi: 10.1371/journal.pone.0018935.

**Costard, S., Wieland, B., de Glanville, W., Jori, F., Rowlands, R., Vosloo, W., Roger, F., Pfeiffer, D.U, Dixon, L.K** (2009). African swine fever: how can global spread be prevented? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*; 364(1530):2683–2696.

**Costard, S., Mur, L., Lubroth, J., Sanchez-Vizcaino, J.M, Pfeiffer, D.U** (2013). Epidemiology of African swine fever. *Virus Research*; 173:191–197.

**Costard, S., Zagmutt, F.J, Porphyre, T., Pfeiffer, D.U** (2015). Small-scale pig farmers' behavior, silent release of African swine fever virus and consequences for disease spread. *Scientific Reports*; 5:17074. doi:10.1038./srep17074.

- Cubillos, C., Gomez-Sebastian, S., Moreno, N., Nunes, M.C, Mulumba-Mfumum, L.K, Quembo, C.J, Heath, L., Ette, E.M.C, Jori, F., Escribano, J.M, Blanco, E.** (2013). African swine fever virus serodiagnosis: A general review with a focus on the analyses of African serum samples. *Virus Research*; 173:159–167.
- Davies, K., Goatley, L.C, Guinat, C., Netherton, C.L, Gubbins, S., Dixon, L.K, Reis, A.L** (2015). Survival of African Swine Fever Virus in Excretions from Pigs Experimentally Infected with the Georgia 2007/1 Isolate. *Transbound. Emerg. Dis.* doi:10.1111/tbed.12381.
- de Carvalho Ferreira, H.C, Weesendorp, E., Elbers, A.R.W, Bouma, A., Quak, S., Stegeman, J.A, Loeffen, W.L.A** (2012). African swine fever virus excretion patterns in persistently infected animals: A quantitative approach. *Veterinary Microbiology*; 160:327–340.
- de Carvalho Ferreira, H.C, Tudena Zuquete, S., Wijnveld, M., Weesendorp, E., Jogejan, F., Stegeman, A., Loeffen, W.L** (2014). No evidence of African swine fever virus replication in hard ticks. *Ticks and Tick-Borne Diseases*; 5:582–589.
- de León, P., Bustos, M.J, Carrascosa, A.L.** (2012). Laboratory methods to study African swine fever virus. *Virus Research*; 173(1):168–179.
- Dixon, L.K, Chapman, D.A, Netherton, C.L, Upton, C.** (2013a). African swine fever virus replication and genomics. *Virus Research*; 173(1):3–14.
- Dixon, L.K, Abrams, C.C, Chapman, D.D.G, Goatley, L.C, Netherton, C.L, Taylor, G., Takamatsu, H.H** (2013b). Prospects for Development of African Swine Fever Virus Vaccines. *Dev. Biol. (Basel)*; 135:147–157.
- Gallardo, C., Okoth, E., Pelayo, V., Anchuelo, R., Martín, E., Simón, A., Llorente, A., Nieto, R., Soler, A., Martín, R., Arias, M., Bishop, R.P** (2011). African swine fever viruses with two different genotypes, both of which occur in domestic pigs, are associated with ticks and adult warthogs, respectively, at a single geographical site. *J. Gen. Virol.*; 92(2):432–434.
- Gallardo, C., Fernandez-Pinero, J., Pelayo, V., Gzaev, I., Markowska-Daniel, I., Pridotkas, G., Nieto, R., Fernandez-Pacheco, P., Bokhan, S., Nevolko, O., Drozhzhe, Z., Perez, C., Soler, A., Kolvasov, D., Arias, M.** (2014a). Genetic Variation among African Swine Fever Genotype II Viruses, Eastern and Central Europe. *Emerging Infectious Diseases*; 20(9):1544–1547.
- Gallardo, C., Soler, A., Nieto, R., Cano, C., Pelayo, V., Sanchez, M.A, Pridotkas, G., Fernandez-Pinero, J., Briones, V., Arias, M.** (2014b). Experimental Infection of Domestic Pigs with African Swine Fever Virus Lithuania 2014 Genotype II Field Isolate. *Transboundary and Emerging Diseases*. doi: 10.1111/tbed.12346.
- Gallardo, M.C, de la Torre-Reoyo, A., Fernandez-Pinero, J., Iglesias, I., Munoz, M.J, Arias, M.L** (2015). African swine fever: a global view on current challenge. *Porcine Health Management*; 1: 21. doi: 10.1186/s40813-015-0013-y.

- Gavier-Widen, D., Cortazar, C., Stahl, K., Neimanis, A.S., Rossi, S., Seferstad, C.H., Kuiken, T.** (2015). African swine fever in wild boar in Europe: a notable challenge. *Vet. Rec.*; 176(8):199–200.
- Goatley, L.C, Twigg, S.R, Miskin, J.E, Monaghan, P, St-Arnaud, R., Smith, G.L, Dixon, L.K** (2002). The African Swine Fever Virus Protein p30 Binds to the Alpha Chain of Nascent Polypeptide-Associated Complex. *Journal of Virology*; 76(19):9991–9999.
- Gogin, A., Gerasimov, V., Malogolovkin, A., Kolbasov, D.** (2013) African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007-2012. *Virus Research*; 173:198–203.
- Goller, K.V, Malogolovkin, A.S, Katorkin, S., Kolbasov, D., Titov, I., Höper, D., Beer, M., Keil, G.M, Portugal, R., Blome, S.** (2015). Tandem repeat insertion in African swine fever virus, Russia, 2012. *Emerg. Infect. Dis.*; 21(4):731–732.
- Gulenkin, V.M, Korennoy, F.I, Karaulov, A.K, Dudnikov, S.A** (2011). Cartographical analysis of African swine fever outbreak in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Preventive Veterinary Medicine*; 102:167–174.
- Hawes, P.C, Netherton, C.L, Wileman, T.E, Monaghan, P.** (2001). The Envelope of Intracellular African Swine Fever Virus Is Composed of a Single Lipid Bilayer. *Journal of Virology*; 82(16):7905–7912.
- Lewis, T., Zsak, L., Burrage, T.G, Lu, Z., Kutish, G.F, Neiljan, J.G, Rock, D.L** (2000). An African swine fever virus ERV1-ALR homologue, 9GL, affects virion maturation and viral growth in macrophages and viral virulence in swine. *Journal of Virology*; 73(3):1275–1285.
- Malogolovkin, A., Burmakina, G., Titov, I., Sereda, A., Gogin, A., Baryshnikova, E., Kolbasov, D.** (2015). Comparative Analysis of African Swine Fever Virus Genotypes and Serogroups. *Emerg. Infect. Dis.*; 21(2):312-315.
- Mellor, P.S, Kitching, R.F, Wilkinson, P.J** (1987). Mechanical transmission of capripox virus and African swine fever virus by *Stomoxys calcitrans*. *Res. Vet. Sci.*; 43(1):109–112.
- Mikovitš, B.** (2016). Seakatkukahjud ulatuvad miljonitesse. *Maaleht*, 4. veebruar.
- Montgomery, R.E** (1921). On a form of swine fever occurring in British East Africa. *J. Comp. Pathol.*; 34:59–191.
- Motarjemi, Y., Moy, G., Todd E.** (2014). *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier:San Diego.
- Moore, D.M, Zsak, L., Neilan, J.G, Lu, Z., Rock, D.L** (1998). The African swine fever virus thymidine kinase gene is required for efficient replication in swine macrophages and for virulence in swine. *Journal of Virology*; 72:10310–10315.
- Netherton, C.L, Wileman, T.E** (2013). African swine fever organelle rearrangements. *Virus research*; 173(1):76–86.
- Oja, R., Remm, J.** (2015). Sigade Aafrika katk. *Eesti Jahimees*; 5:14–15.

- Oliveros, M., Garcia-Escudero, R., Alejo, A., Vinuela, E., Salas, M.I, Salas, J.** (1999). African swine fever virus dUTPase is a highly specific enzyme required for efficient replication in swine macrophages. *Journal of Virology*; 73(11):8934–8943.
- Oura, C.A., Edwards, L., Batten, C.A** (2013). Virological Diagnosis of African swine fever – Comparative study of available tests. *Virus Research*; 173:150–158.
- Rowlands, R.J, Michaud, V., Heath, L., Hutchings, G., Oura, C.A, Vosloo, W., Dwarka, R.M, Onashvili, T., Albina, E., Dixon, L.K** (2008). African swine fever isolate, Georgia, 2007. *Emerging Infectious Diseases*; 14(12):1870–1874.
- Salas, M.L, Andres, G.** (2012). African swine fever virus morphogenesis. *Virus Research*; 173(1):29-41.
- Sanchez-Torres, C., Gomez-Puertas, P., Gomez-del-Moral, M., Alonso, F., Escribano, J.M, Esquerria, A., Dominguez, J.** (2003). Expression of porcine CD163 on monocytes/macrophages correlates with permissiveness to African swine fever infection. *Archives of Virology*; 148:2307–2323.
- Sanchez-Vizcaino, J.M, Mur, L., Martinez-Lopez, B.** (2013). African swine fever (ASF): Five years around Europe. *Veterinary Microbiology*; 165:45–50.
- Sanchez-Vizcaino, J.M, Mur, L., Gomez-Villamandos, J.C, Carrasco, L.** (2015). An Update on the Epidemiology and Pathology of African Swine Fever. *J. Comp. Path.*; 132:9–21.
- Zakaryan, H., Revilla, Y.** (2016). African swine fever virus: current state and future perspectives in vaccine and antiviral research. *Veterinary Microbiology*; 185:15–19.
- Zsak, L., Lu, Z., Burrage, G., Neilan, J.G, Kutish, G.F, Moore, M., Rock, D.L** (2001). African Swine Fever Virus Multigene Family 360 and 530 Genes Are Novel Macrophage Host Range Determinants. *Journal of Virology*; 75(7):3066–3076.

## KASUTATUD VEEBIAADRESSID

African Swine Fever (2004)

<http://www.phsource.us/PH/PALM/PDA/AFRICAN%20SWINE%20FEVER.pdf> (25.02.16)

Euroopa Liidu sigade Aafrika katku (ASF) referentslaboratooriumi kodulehekülg

<http://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/diagnostic-procedures> (8.05.16)

Faktileht: Eesti Maülikooli epidemioloogiline uuring “Tõenäolised nakatumisteed sigade Aafrika katkust (SAK) taandunud koduseakarjades” (2016)

<http://www.agri.ee/sites/default/files/content/valjaanded/2016/sak-2016-02-03-press-uuring-faktileht.pdf> (16.04.16)

Guidelines on surveillance and control of African swine fever in feral pigs and preventive measures for pig holdings (2014)

[http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/docs/sanco\\_7138\\_2013\\_asf\\_wb\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/controlmeasures/docs/sanco_7138_2013_asf_wb_en.pdf) (8.04.16)

Maaeluministeeriumi kodulehekülg. Seakatk

<http://www.agri.ee/et/seakatk> (25.03.16)

OIE Terrestrial Manual (2012). African swine fever

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/2.08.01\\_ASF.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.08.01_ASF.pdf) (15.02.16)

Programme of Measures for the Prevention and Control of African Swine Fever and Eradication of its Outbreaks in Estonia, Latvia, Lithuania and Poland (2014)

<http://www.agri.ee/sites/default/files/content/toiduohutus/tauditorje-sak-rahvusvaheline-programm-eng.pdf> (8.04.16)

Sigade Aafrika katku leviku kronoloogia 2011–2016 (2016)

<http://www.agri.ee/sites/default/files/content/valjaanded/2016/sak-2016-02-03-press-kronoloogia-faktileht.pdf> (17.04.16)

Sigade Aafrika katku mõju Eesti sealiha sektorile (2015)

<http://www.agri.ee/sites/default/files/content/uuringud/2016/uuring-2016-sak-sealihasektor.pdf> (17.04.16).

**Viltrop, A.** (2016a). Sigade Aafrika katku puhangute epidemioloogilise uuringu tulemustest.

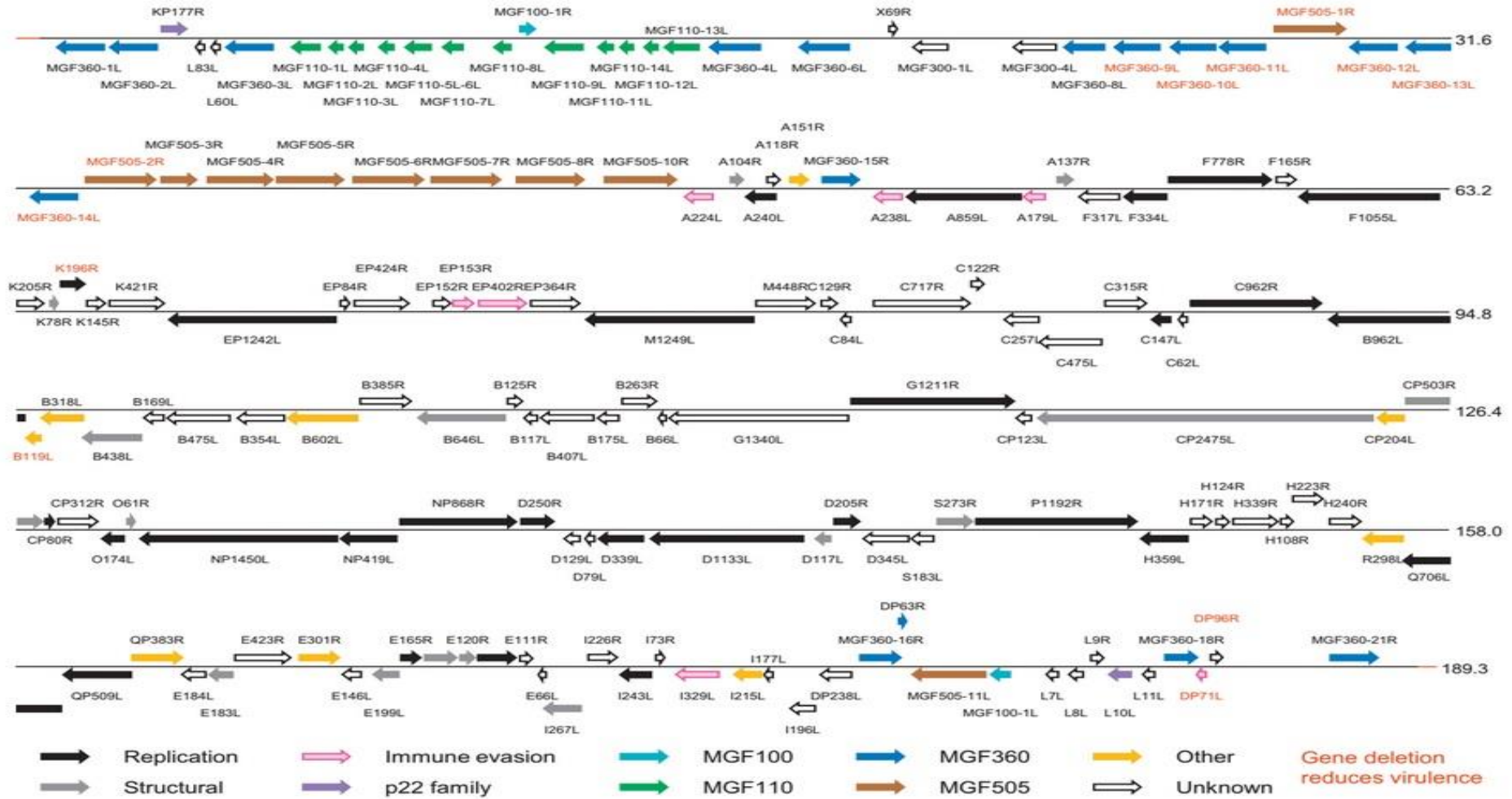
<http://www.agri.ee/et/uudised/uuring-seakatku-joudmist-farmi-saab-valtida-bioohutusnouete-range-jargimisega> (17.04.16).

**Viltrop, A.** (2016b). Overview of the Baltic and Polish ASF related scientific activities.


<http://www.agri.ee/sites/default/files/.../seminar-2016-02-26-viltrop.pptx> (22.04.16).

# LISAD


## Lisa 1. ASFV Georgia2007/1 isolaadi genoomi organisatsioon (selgitus Joonis 3 juures, lehekül 9)



## Lisa 2. Plakat “Bioohutus farmis sigade Aafrika katku vältimiseks”




MAAELUMINISTEERIUM




VETERINAAR- JA TOIDUAMET

# BIOOHUTUS FARMIS SIGADE AAFRIKA KATKU VÄLTIMISEKS


**RISKID SIGADE NAKATUMISEKS SIGADE AAFRIKA KATKU**




**SIGADE AAFRIKA KATK**  
Kuni 100% surmav ja ülimalt nakkav kodu- ja metssigade haigus. Iga loomapidaja peab rakendama kõiki ettenähtud bioohutusmeetmeid, et oma loomi taudi eest kaitsta.




**METS SIGA**  
Kontakt haige kodu- või metssea või tema eritistega




**INIMENE**  
Eksimused bioohutusnõuete täitmisel



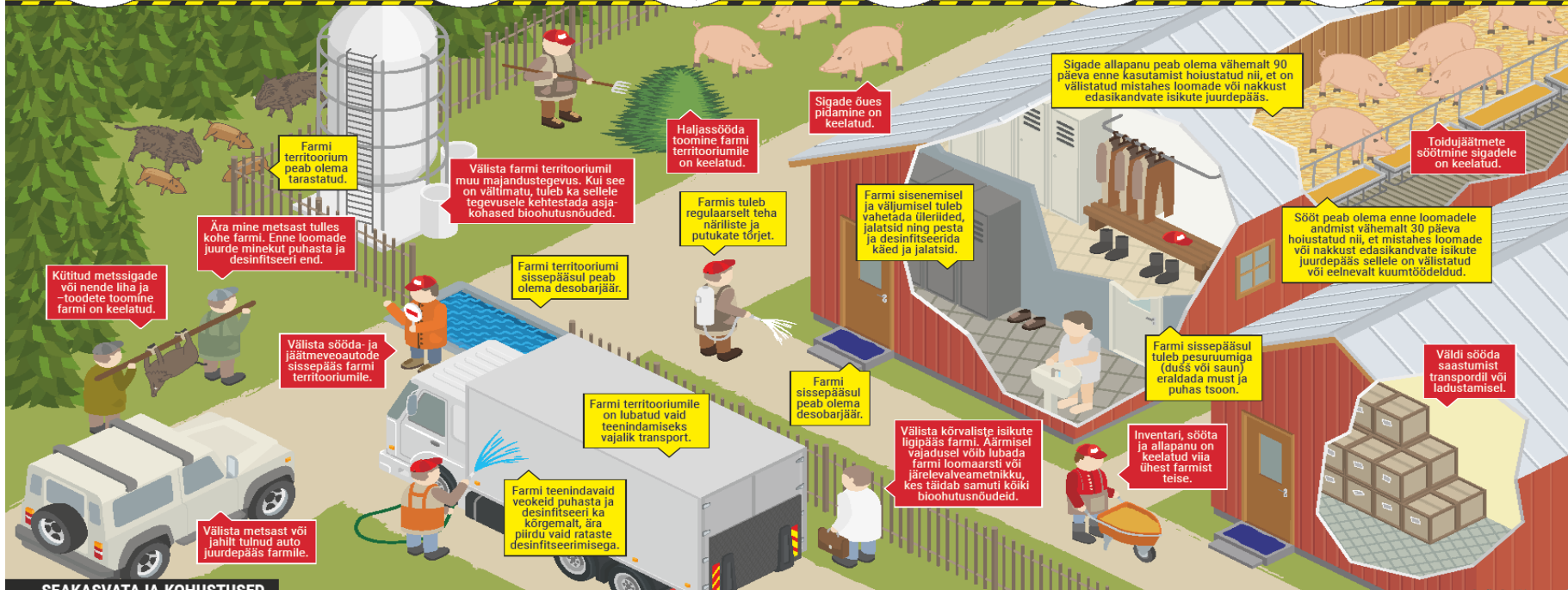
**SÖÖT**  
Metssigade poolt saastatud sööt



**TRANSPORT**  
Transportivahendite eba piisav puhastamine ja desinfitseerimine



**MUUD TEGURID**  
Teoreetiline võimalus viiruse edasikandumiseks teiste loomade, hiirte, lindude või putukatega



Farmi territoorium peab olema tarastatud.

Väljasta farmi territooriumil muu majandustegevus. Kui see on vältimatu, tuleb ka sellele tegevusele kehtestada asjakohased bioohutusnõuded.

Haljassööda toomine farmi territooriumile on keelatud.

Sigade õues pidamine on keelatud.

Sigade allapanu peab olema vähemalt 90 päeva enne kasutamist hoistatud nii, et on välistatud mistahes loomade või nakkust edasikandvate isikute juurdepääs.

Toidujäätmete söötmine sigadele on keelatud.

Ära mine metsast tulles kohe farmi. Enne loomade juurde minekut puhasta ja desinfitseeri end.

Farmis tuleb regulaarselt teha näriliste ja putukate tõrjet.

Farmi sisenemisel ja väljumisel tuleb vahetada üleriided, jalatsid ning pesta ja desinfitseerida käed ja jalatsid.

Sööt peab olema enne loomade andmist vähemalt 30 päeva hoistatud nii, et mistahes loomade või nakkust edasikandvate isikute juurdepääs sellele on välistatud või eelnevalt kuumtöödeldud.

Väljasta sööda saastumist transporti või ladustamisel.

Kütid metssigade või nende liha ja toodete toomine farmi on keelatud.

Farmi territooriumi sissepääsul peab olema desobarjäär.

Farmis sissepääsul peab olema desobarjäär.

Farmi sissepääsul tuleb pesuruumiga eraldada must ja puhas tsoon.

Inventari, sööta ja allapanu on keelatud viia ühest farmist teise.


Väljasta sööda- ja jäätmeveoautode sissepääs farmi territooriumile.

Farmi territooriumile on lubatud vaid teenindamiseks vajalik transport.


Väljasta kõrvaliste isikute ligipääs farmi. Äärmisel vajadusel võib lubada farmi loomaarsti või äärevalveametniku, kes täidab samuti kõiki bioohutusnõudeid.

Farmi teenindavaid veokeid puhasta ja desinfitseeri ka kõrgemalt, ära piirdu vaid rataste desinfitseerimisega.


**SEAKASVATAJA KOHUSTUSED**




Seakasvataja peab kõigile loomapidamises osalevatele inimestele selgitama rakendatavaid bioohutusmeetmeid ning nõudma nende järgimist kõigilt töötajalt, pere liikmelt ja teenindavalt personalilt (nt loomaarst, elektrik).



Seakasvataja peab koostama rakendatavate bioohutusmeetmete jaabinõude kohta bioohutuskava ning dokumenteerima selle täitmist.



Seakatku riskipiirkondades (II-III tsoon) tuleb sigade oma tarbeks tapmisel teavitada sellest loomaarsti, kes võtab proovid sigade Aafrika katku välistamiseks.



Loomade haigestumisest tuleb kohe teavitada loomaarsti või kohaliku veterinaarikeskust.

**Loomad ja loomakasvatustööd peavad olema registreeritud PRIA registris.**

**S** Bioohutusnõuded sigade Aafrika katku ennetamiseks ja vältimiseks sätestab loomataudtõrje seadus ja põllumajandusministri määrus “Sigade klassikalise katku ja sigade aafrika katku tõrje eeskiri”.

**A** Bioohutuskava on kirjalik dokument, milles loomapidaja kirjeldab lühidalt loomapidamisega seonduvaid tegevusi (loomakasvatushoones rakendatavad hügieenimeetmed, uute loomade asissetoimise ja teise farmi paigutamise reeglid, loomade sissetuleku ja väljumise registreerimine, puhastamine ja desinfitseerimine, sõnniku ja allapanu äravõtu, korjaste eemaldamine, küllalised registreerimine, farmi teenindava transporti liikumine jnt tegevused), nendega seotud riske ja risikide maandamist lähtuvalt taudhoiust.

**LISAINFO JA KONTAKTID** **WWW.SEAKATK.EE**

40

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Marily Meldre (sünnikuupäev: 05.05.1988)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Sigade Aafrika katku viirus, mille juhendaja on Eva Žusinaite,
  - 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tallinnas, 14.05.2016