



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA
"G.PEGREFFI"



Società Italiana di Medicina Veterinaria Preventiva
Corso di formazione
Malattie Emergenti e Riemergenti

Peste suina africana: da malattia epidemica a malattia endemica

Alberto Laddomada
Roma, 19 Dicembre 2016



PSA

- **La storia**
- **Un breve ripasso**
- **La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione**
- **La situazione nell'Europa dell'Est**
- **Il vaccino è in arrivo?**



PSA

- **La storia**
- Un breve ripasso
- La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione
- La situazione nell'Europa dell'Est
- Il vaccino è in arrivo?



Kenia, 1921



DR. G. C. B. BROWN AND DR. J. H. J. ZIMMERLI



Penisola Iberica 1957-1960





Sardegna 1978





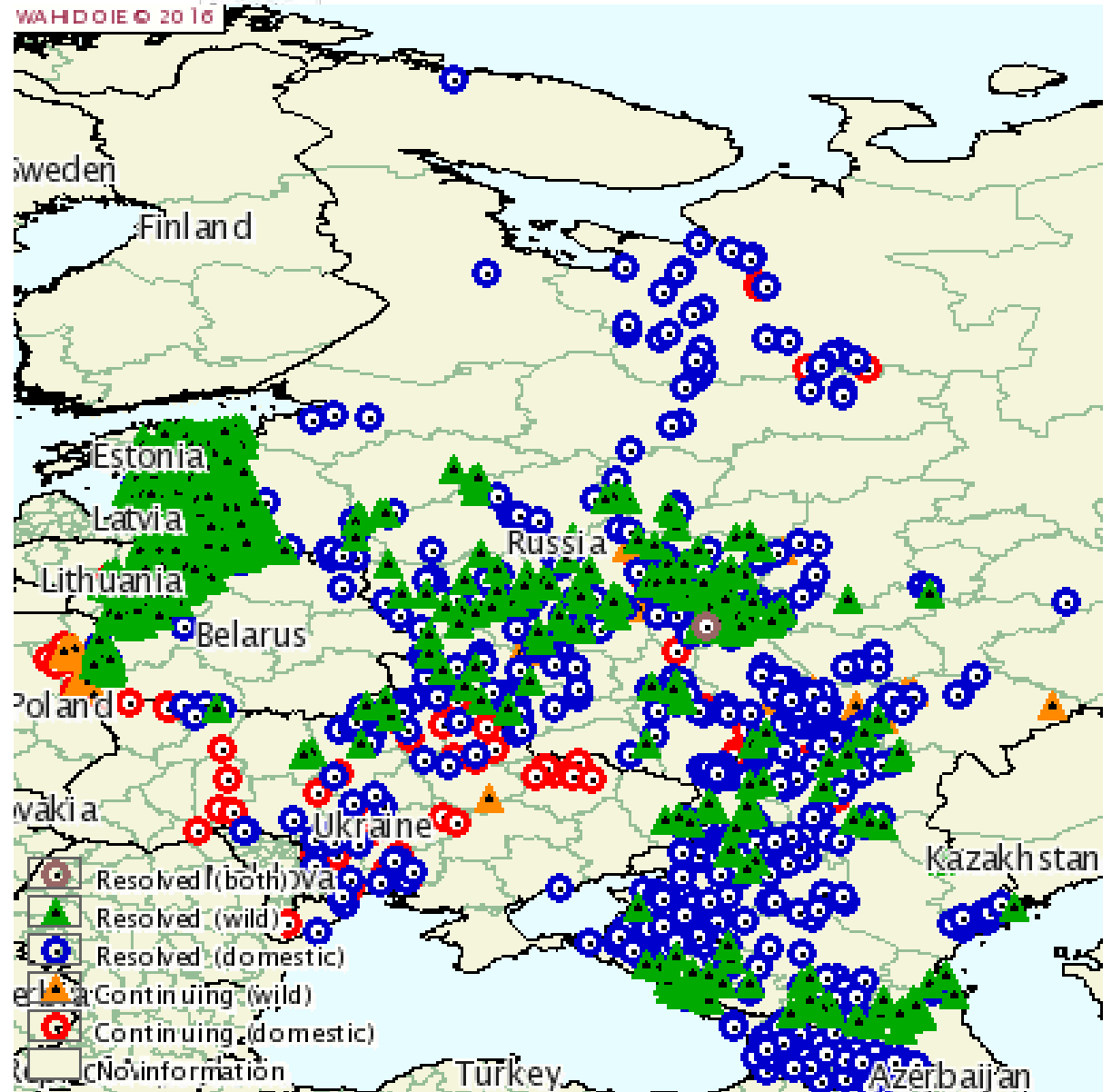
Europa dell'Est 2007





La situazione PSA nell'Europa Orientale

2007-2016
OIE WAHID





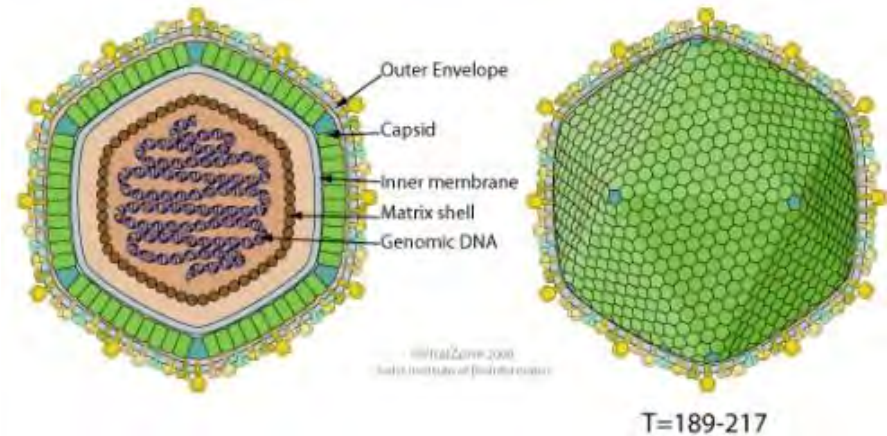
PSA

- La storia
- **Un breve ripasso**
- La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione
- La situazione nell'Europa dell'Est
- Il vaccino è in arrivo?



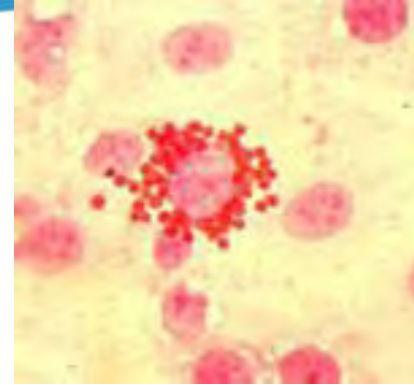
ASFV

- **Asfarviridae**
- **arbovirus**
- **ds-DNA, 170-190 kbp, \geq 150 ORFs**
- **Scarsa variabilità** (ma 23 genotipi)
- **Elevata resistenza**





La peste suina africana



- Febbre emorragica
- Forme cliniche iperacute, acute, subacute e *croniche*
- Monociti-macrofagi
- Emoadsorbimento
- Assenza di anticorpi neutralizzanti
- Viremia di lunga durata
- Ruolo dei Carriers
- Immunità a seguito di infezione naturale
- Cross-protezione?



- **Peracute form (highly virulent virus):** sudden death with few signs
- **Acute form (highly virulent virus) :** Fever (40.5–42°C), Early leucopenia and thrombocytopenia (48–72 hours); Reddening of the skin (white pigs) ; Anorexia, cyanosis and incoordination; dispnoea; Vomiting, diarrhoea (sometimes bloody) and eye discharges ; abortion; death within 6–13 days, or up to 20 days; mortality rate often approaches 100%;
- **Subacute form (moderately virulent virus):** less intense signs; slight fever, reduced appetite and depression; duration of illness is 5–30 days; abortion; death within 15–45 days; mortality rate is lower (e.g. 30–70%, varies widely)
- **Chronic form (moderately or low virulent virus):** various signs: loss of weight, irregular peaks of temperature, respiratory signs, necrosis in areas of skin, chronic skin ulcers, arthritis, endocarditis, adhesions of lungs, swellings over joints; develops over 2–15 months; low mortality



Lesioni anatomo-patologiche

- **Acute form:** Pronounced **haemorrhages** in the gastrohepatic and renal lymph nodes; **Petechial haemorrhages** of the renal cortex, also in medulla and pelvis of kidneys; Congestive **splenomegaly**; Oedematous areas of cyanosis in hairless parts; Cutaneous ecchymoses on the legs and abdomen; **Excess of pleural, pericardial and/or peritoneal fluid**; Petechiae in the mucous membranes of the larynx and bladder, and on visceral surfaces of organs; **Oedema** in the mesenteric structures of the colon and adjacent to the gall bladder; also wall of gall bladder;
- **Chronic form:** Focal **caseous necrosis** and mineralisation of the lungs; Lymph nodes enlarged



Diagnosi

- **Clinica**
- **Anatomopatologica**
- **Sierologica (ELISA, Immunoperossidasi, Immunoblotting)**
- **Virologica (PCR, Isolamento)**
- **Pen-side**



Misure di controllo ed eradicazione

- **In caso di sospetto** (la maggiore responsabilità per il veterinario pubblico)
- **Stamping-out**
- **Indagine epidemiologica**
- **Zone di protezione e sorveglianza**
- **No vaccini**
- **Flessibili in caso di malattia nei cinghiali**



PSA

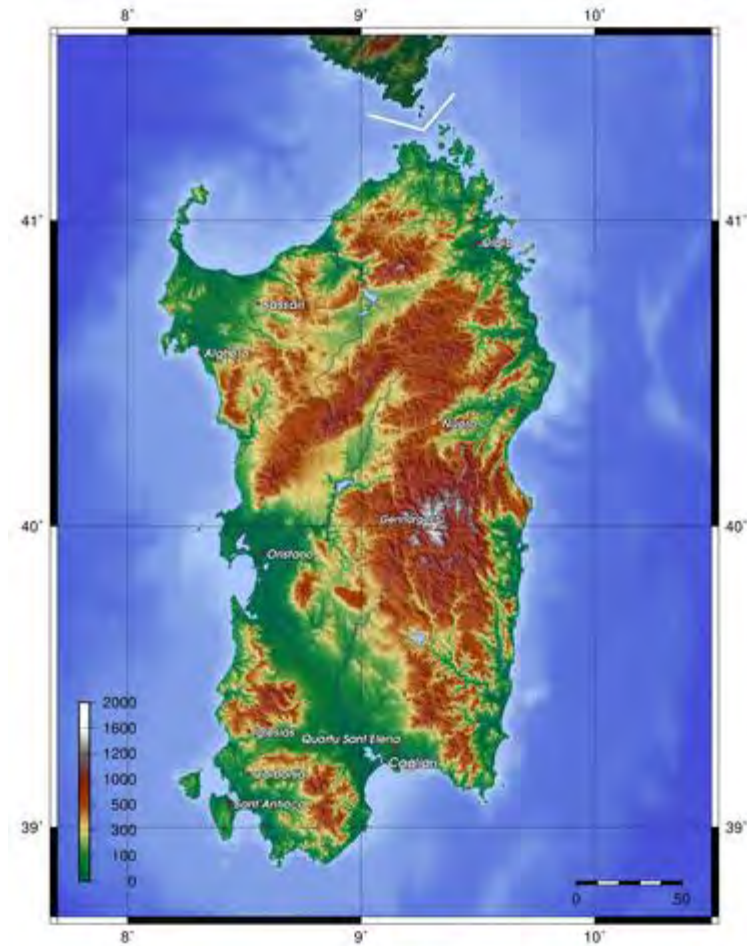
- La storia
- Un breve ripasso
- **La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione**
- La situazione nell'Europa dell'Est
- Il vaccino è in arrivo?



African Swine Fever in Sardinia

- Endemic since 1978
- Originating from the Iberian Peninsula (ASF virus type I)
- **Domestic pigs and wild boar only virus hosts**
- **No *Ornithodoros spp.* involved**
- **No use of live vaccines**

Situation similar to the one in Eastern Europe



Sardinia

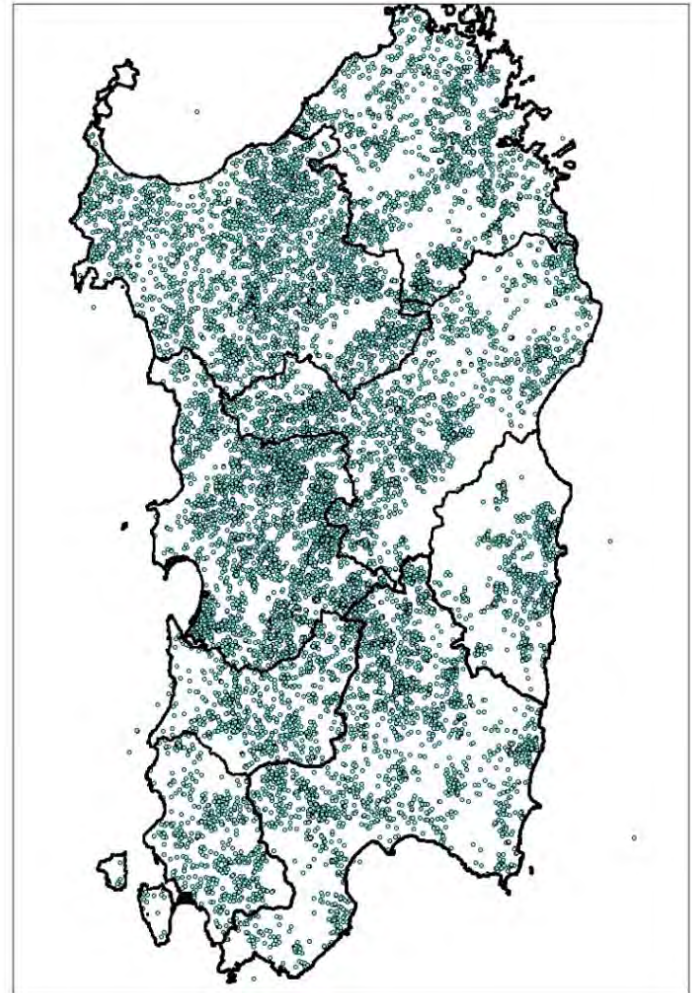
24 000 sqKm

Human population: 1.7 M

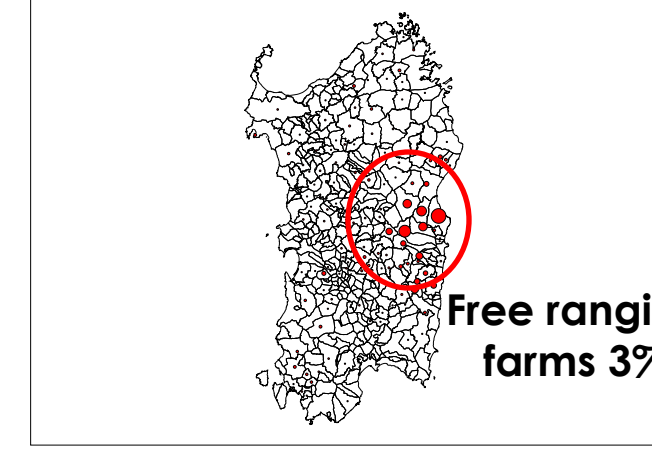
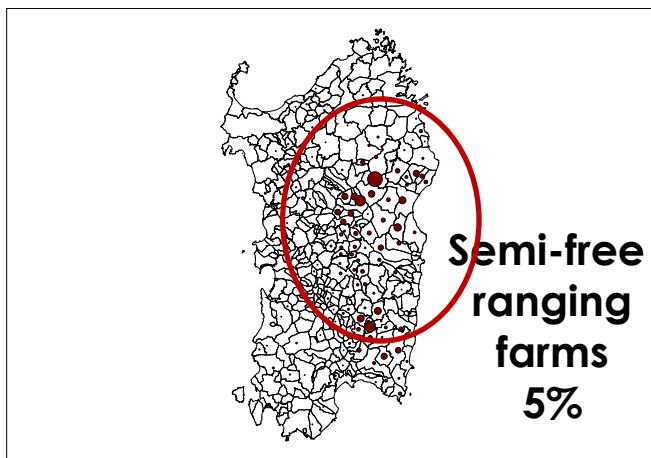
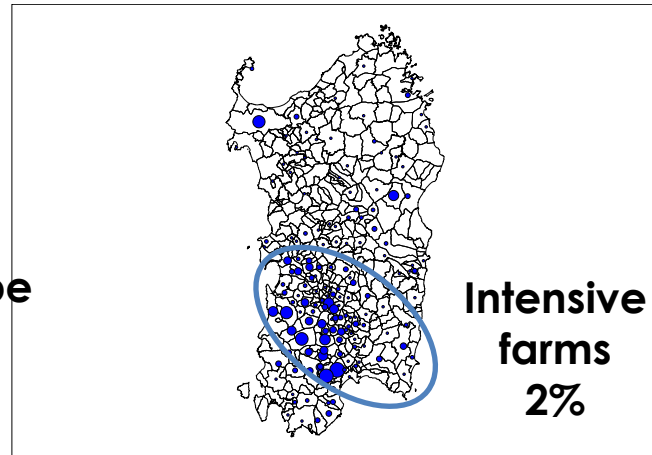
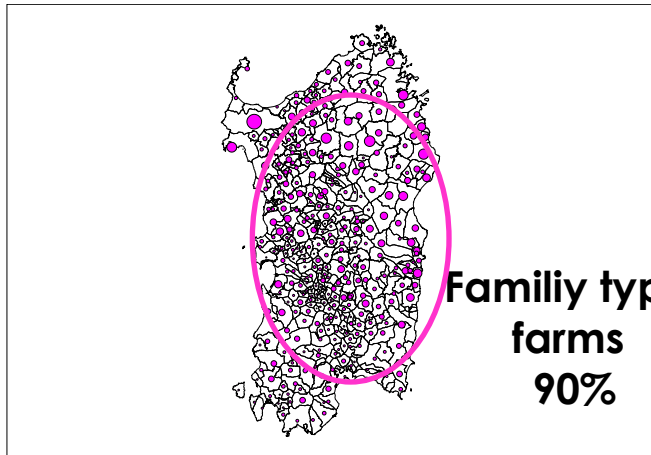
Domestic pigs

≈ 16/17.000 pig holdings

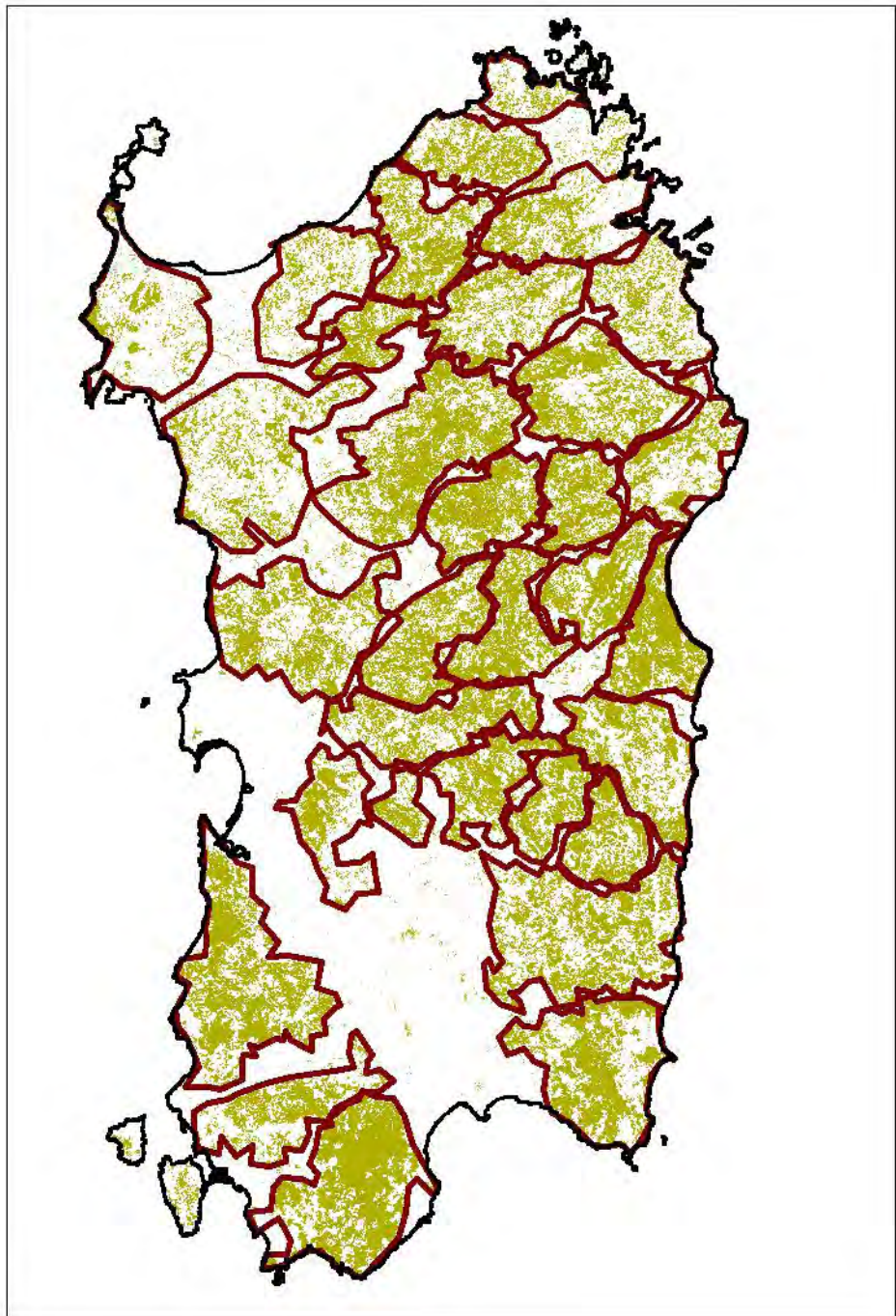
≈ 170.000 head



Categories of pig holdings



Wild boar
population:
around
90 000 head





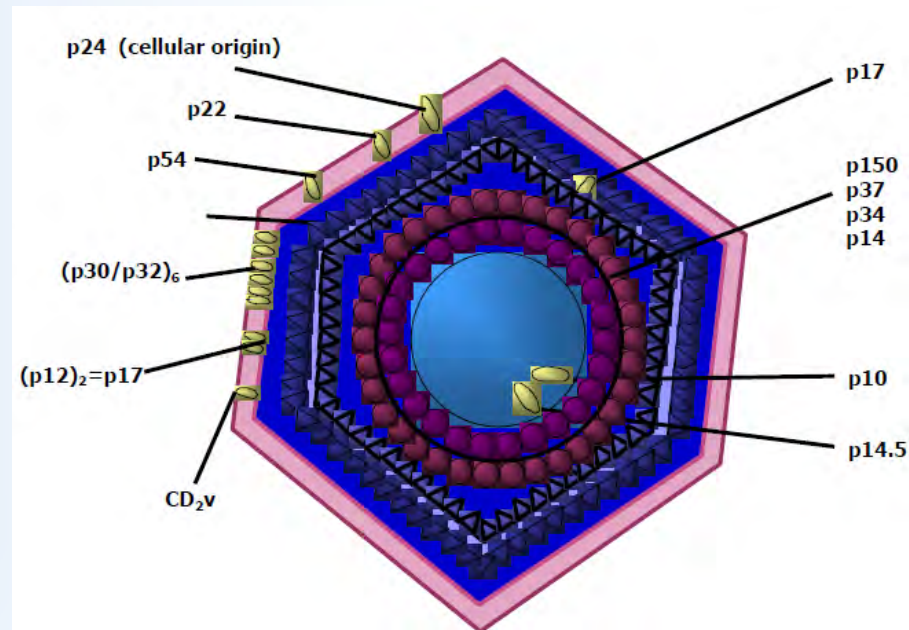
The ASF situation in 2016 (as at 4 December)

- 23 domestic pigs outbreaks ●
- 85 wild boar cases ▼





ASF virus evolution in Sardinia



Genetic characterisation of African swine fever viruses from recent and historical outbreaks in Sardinia (1978–2009)

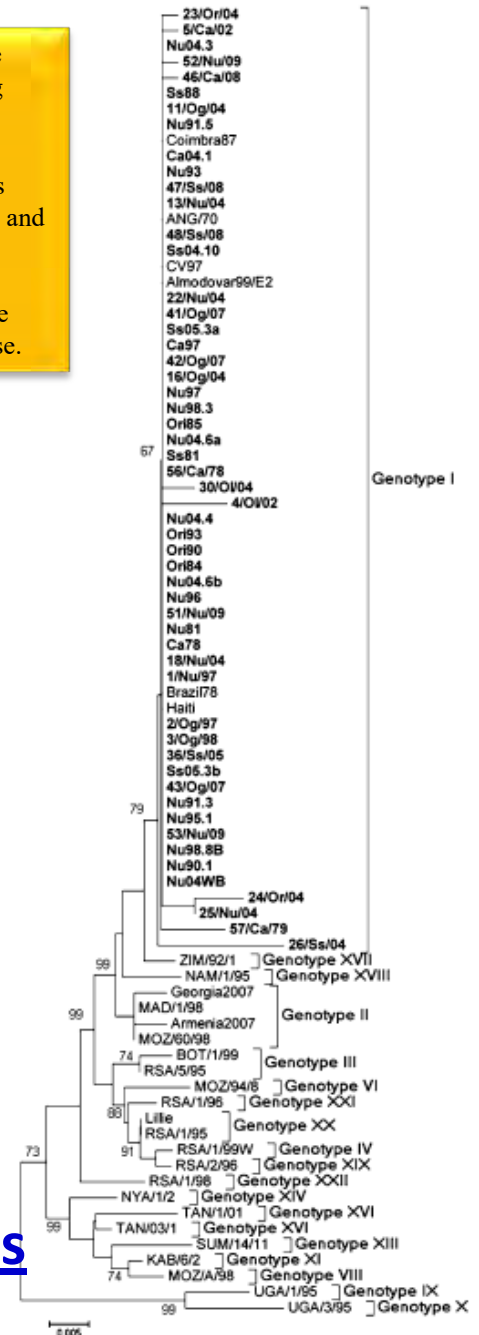
Monica Giammarioli · Carmina Gallardo · Annalisa Oggiano ·
Carmen Iscaro · Raquel Nieto · Claudia Pellegrini · Silvia Dei Giudici ·
Marisa Arias · Gian Mario De Mia

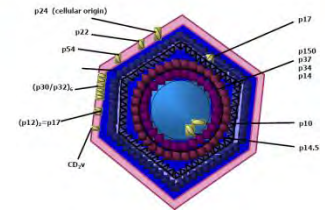
Phylogenetic tree constructed using 404 nt from the p72 gene of 54 Sardinian isolates (labelled in bold) and of 29 reference strains retrieved from the GenBank database.

Sardinian ASF virus can be classified in

- p72 genotype I
- p54 genotype Ia.

- Very low genetic variability amongst isolates (around 100 isolates tested so far)
- The analysis of the B602L region revealed an overall stability of virus genome but also a variation in the number of TRS, leading to the identification of two temporally related subgroups





Further genome regions were analyzed, looking for (a) genetic marker(s) able to discriminate among Sardinian isolates, for molecular epidemiology purposes.

Three genome regions were targeted:

- **CP204L gene** encoding for p30 protein,
- **EP402R gene** encoding for **CD2 protein** and
- Intergenic region between **I73R** and **I329L genes**



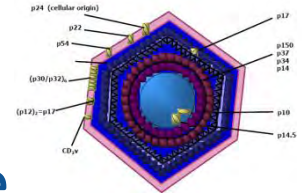
ORIGINAL ARTICLE

Improved Strategy for Molecular Characterization of African Swine Fever Viruses from Sardinia, Based on Analysis of p30, CD2V and I73R/I329L Variable Regions

G. Sanna^{1,2}, S. Dei Giudici^{1,2}, D. Bacciu¹, P. P. Angioi¹, M. Giammarioli², G. M. De Mia² and A. Oggiano¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari, Italy

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell' Umbria e Marche, Perugia, Italy



The results of the CD2 protein gene analysis are temporally comparable to deletions found in the B602L gene. In both cases, as from **1990 Sardinian viruses** showed some deletions in at least two ORFs.

However, considering the big size of the ASFV genome, variations in other unexplored genome regions cannot be excluded.



Complete sequence of two Sardinian ASFV isolates

- The sequence analysis confirmed the genetic variations in the two genome regions and showed several differences with the other 16 complete genomes deposited in GenBank;
- The most divergent ORFs codify for uncharacterized proteins such as X69R and DP96R (51.3% and 70,4% identity);
- Studies are ongoing to sequence other ASFV complete genomes.

Virology Reports 6 (2016) 81–89



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Virology Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/virep



Genomic analysis of Sardinian 26544/OG10 isolate of African swine fever virus



Donatella Bacciu^{a,*}, Massimo Deligios^{b,1}, Giovanna Sanna^a, Maria Paola Madrau^a,
Maria Luisa Sanna^a, Silvia Dei Giudici^a, Annalisa Oggiano^a

^a Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffi", Sassari, Italy

^b Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Sassari, Italy



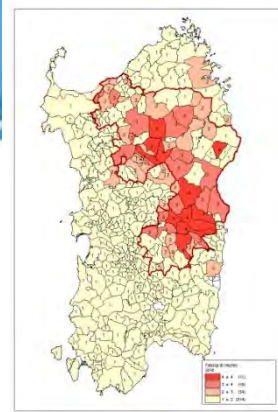
ASF virus evolution in Sardinia – conclusions

- ✓ *Despite the overall stability of ASFV, **genetic variations have been identified, leading to the identification of two temporally related subgroups***
- ✓ *A variant emerged as from 1990, that substituted the previously circulating virus*
 - *Is this variant the result of a random selection?*
 - or*
 - *Has this variant acquired some selective advantages compared to the previous one?*



ASF virus evolution in Sardinia – conclusions

- ✓ The second hypothesis is supported by the rapid and almost complete substitution of the oldest virus, although there are no data suggesting any change in virulence of ASFV.
- ✓ Preliminary results of ongoing *in vitro* studies suggest that the variant emerged in 1990 induces a reduced production of cytokines and replicates more efficiently in macrophages



«Old» knowledge (1980s/1990s)

- Free-ranging (“brado”) pigs the population at highest risk
- Cultural resistance to change the «Sardinian» traditional way to keep pigs
- The wild boar not a permanent reservoir (natural tendency of the disease to fade out 1-3 years after epidemic peaks)

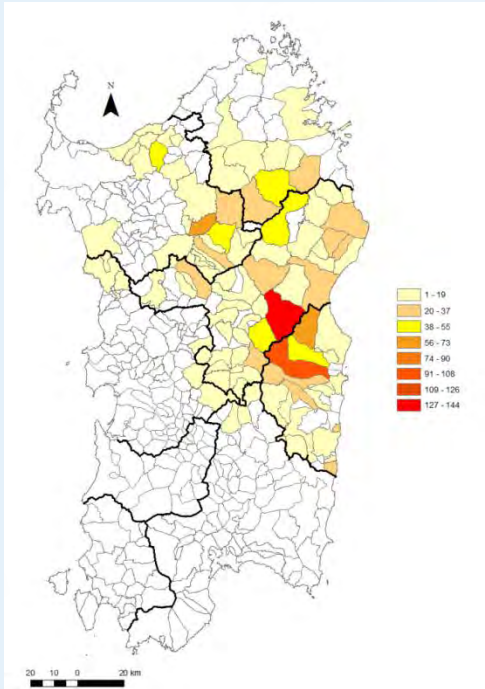


More recent studies

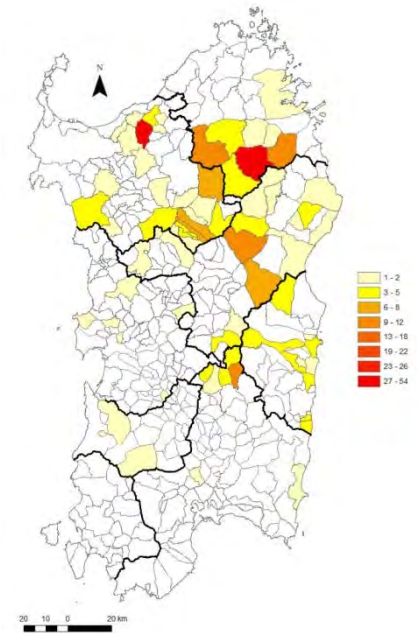
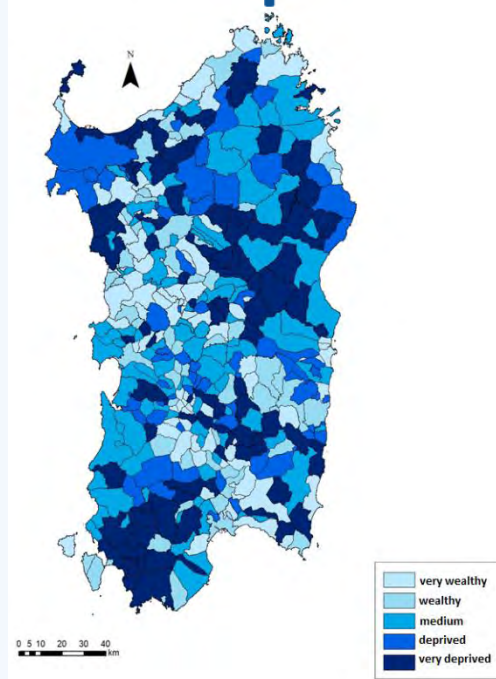
- Confirmed to a large extent the oldest ones
- Furthermore, they highlighted further risk factors, such as:
 - Wild boar density
 - Low biosecurity family farms
 - Illegal movements of animals and products
 - “Local” farm-to-farm spread
 - Height



Association between Material Deprivation Index (MDI) and disease persistence.



WB cases



DP outbreaks

The correlation between variables was evaluated (Pearson's coefficient) and shows positive association between number of cases and outbreaks and MDI values ($\rho = 0.87$, p-value < 0.05) (F. Loi et al., 2016)

Nuovo approccio alla eradicazione

- **Nuovo programma di eradicazione 2015-2017, in linea con le raccomandazioni dalla Commissione (rapporto FVO 2013)**
- **Programma che integra la legislazione europea**
- **Principali nuovi elementi del programma:**
 1. **Chiara catena di comando**
 2. **Azione decisa contro i suini bradi irregolari**
 3. **Sinergia tra le misure di eradicazione e il programma sul benessere animale (programmi di sviluppo rurale)**

Nuova catena di comando

- Costituzione di una task force regionale ("*Unità di Progetto*") per coordinare tutte le autorità
- Il responsabile è dotato di poteri straordinari di coordinamento e decisionali
- Task force supportata da due Leggi Regionali e due Delibere della Giunta Regionale

La nuova catena di comando riflette la forte volontà politica di risolvere il problema PSA una volta per tutte!

Azioni decise contro I suini bradi irregolari

- Informazione e formazione per gli allevatori, I cacciatori, la comunità rurale e le popolazioni
- Possibilità di rientro nella legalità, a certe condizioni
- Abbattimenti a carico del Corpo delle Guardie forestali e dei Servizi Veterinari AASSLL con la cooperazione dell'Ente Foreste

Sinergia con il programma per il benessere animale

- Basato sui buoni risultati del programme benessere per gli ovini degli ultimi 5 anni: migliori condizioni igieniche e di allevamento
➡ meno stress ➡ migliore benessere ➡ meno cellule somatiche ➡ prezzo del latte più alto
- **Programma ora esteso ai suini**
- **I proprietari dei suini avranno supporto finanziario solo se in regola con la normativa sanitaria + requisiti addizionali su benessere e biosicurezza**

Controlli rafforzati e qualifica delle aziende

- Controlli rafforzati su tutte le aziende suinicole, ai fini della loro qualifica:
- “azienda controllate per PSA”: regolarmente registrata, suini identificati e negativi per PSA, requisiti minimi di biosicurezza – “azienda certificata per PSA” come sopra più ulteriori requisiti di biosicurezza – essenziale per i pagamenti BA per il 2017



ASF-risk map

273 Communes
in the «non-infected» zone
Risk level 1 (except 4 at level 2)

96 Communes
In the «infected zone»

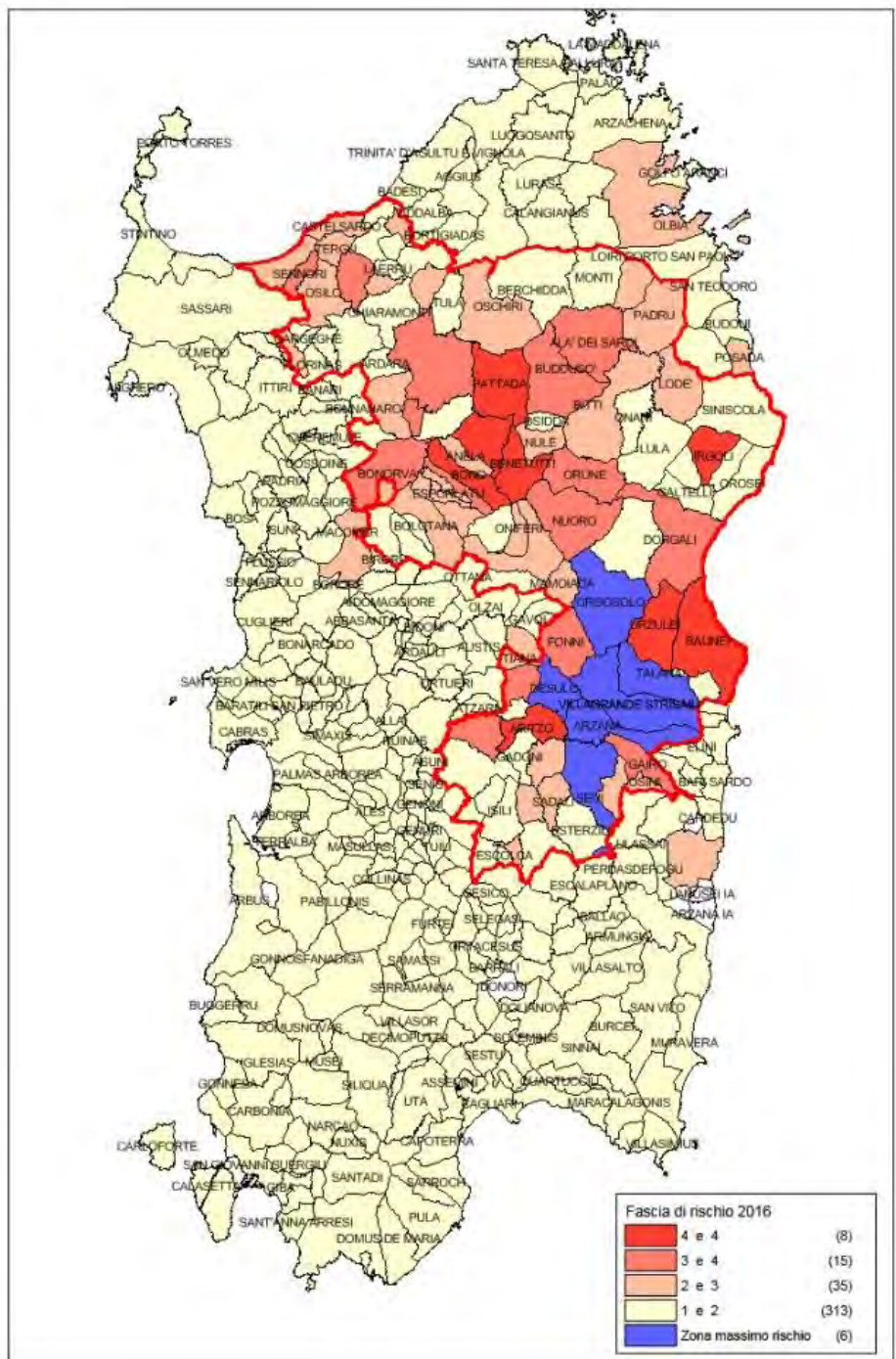
40 risk level 1

27 risk level 2

15 risk level 3

8 risk level 4

6 Risk level 5





The risk map is based on data 2012-2015, taking into account:

- **Number** of dp outbreaks, wb cases and serosurveillance data
- **Trend** of disease occurrence
- **Compliance** with preventive measures
- Presence of “**brado**”
- **Lack of compliance with veterinary measures**
- Ratio between number of **checks** done and the number of checks planned

Outbreaks in domestic pigs

Local Health Unit	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
1		6	24	52	8	7	1
2		1	30	51		4	1
3	1	3	7	4	14	4	21
4	1	11		2	8		
5	1	5	1				
6		1			1		
7							
8	6	4	12		9	1	
tot	9	31	74	109	40	16	23

ASF sero-surveillance in the wild boar (2010-2016/17)

Hunting season (1 November – 31 January)	Wild boar tested	Seropositive	Seroprevalence (95% CL)
2010-2011	3.137	27	0.86 (0.58-1.27)
2011-2012	9.319	148	1.59 (1.35-1.87)
2012-2013	6.342	341	6.23 (5.62-6.89)
2013-2014	10.026	269	2.68 (2.38-3.02)
2014-2015	11.386	278	2.44 (2.17-2.75)
2015-2016	12.734	245	1.92 (1.70 – 2.18)
2016-2017	9.488	121	1.28 (1.06-1.53)



The first results of this ongoing programme seems to be encouraging.

- ✓ Containment of disease in the infected zone
- ✓ Slight positive trend in both domestic pigs and wild boar.
- ✓ Compliance with veterinary rules has increased
- **A lot of work must still be done to achieve eradication**
- **2017 will be crucial.**



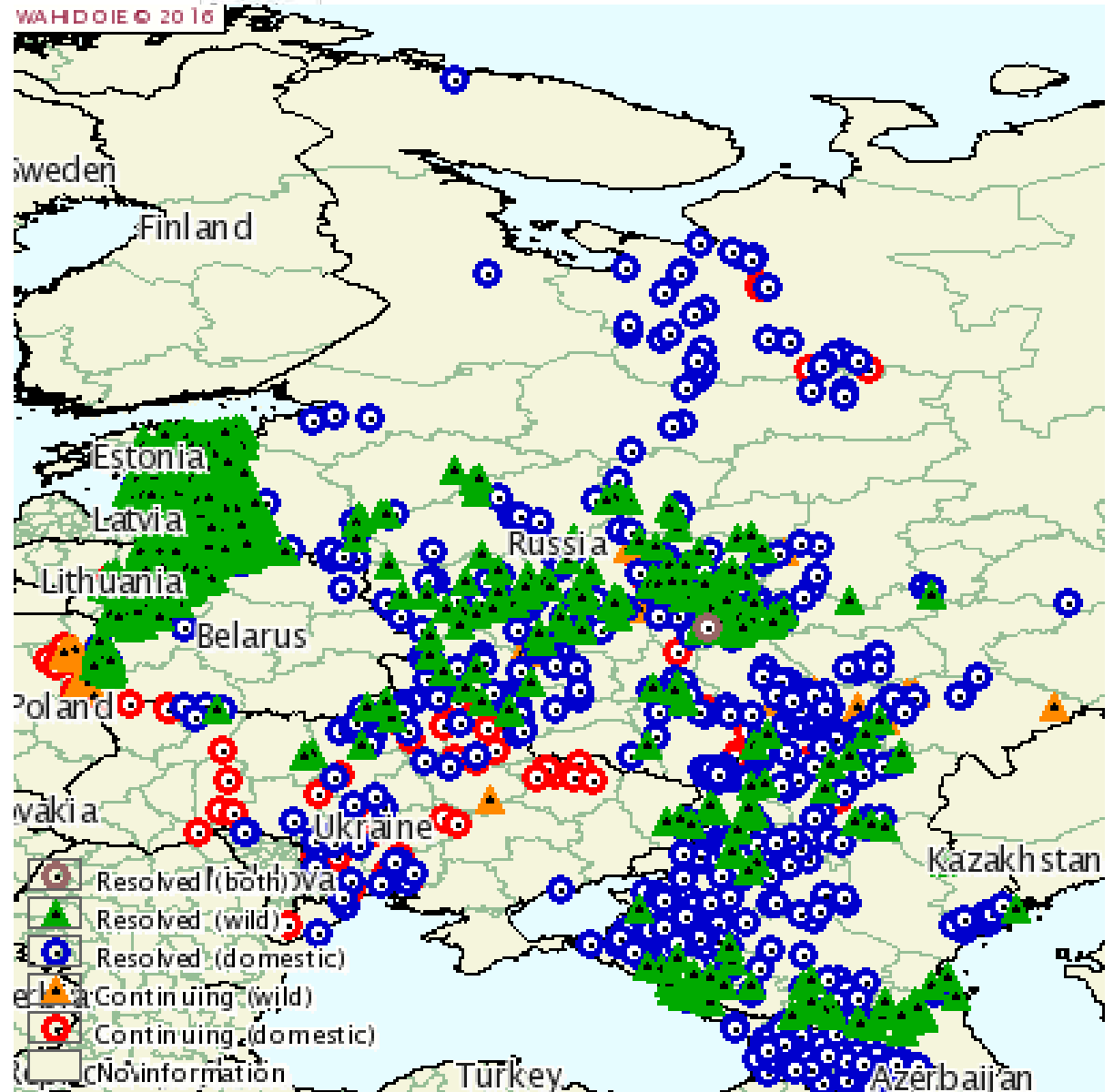
PSA

- La storia
- Un breve ripasso
- La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione
- **La situazione nell'Europa dell'Est**
- Il vaccino è in arrivo?



La situazione PSA nell'Europa Orientale

2007-2016
OIE WAHID





Come è stato possibile?

- Assenza di un sistema veterinario efficiente
- Mancanza di coordinamento tra le diverse autorità
- Scarsa trasparenza, insufficiente prevenzione, impreparazione
- Tensioni politiche, guerre

- **Insufficiente biosicurezza negli allevamenti**

- **Ruolo dei cinghiali (e dei cacciatori ...)**



Come è stato possibile?

- Georgia, 2007
- Armenia, Azerbaijan, Russia, 2008
- Ucraina, 2012
- Bielorussia, 2013
- Lituania, Polonia, Lettonia, Estonia 2014
- Moldavia, 2016

Quale sarà il prossimo nel 2017?



Biosicurezza nelle aziende non commerciali

Divieto alimentazione rifiuti di cucina.

- **Nessun contatto** tra i suini dell'azienda e altri suidi
- **Nessun contatto con parti di suini selvatici** (carcasse/carni di cinghiali cacciati o trovati morti).
- **Cambio di abiti e disinfezioni** all'ingresso dei locali
- **Nessun contatto con altre persone non autorizzate**
- **Macellazione familiare** previa visita veterinaria.
- **Solo animali da ingrasso** in azienda.



Suini domestici – requisiti biosicurezza

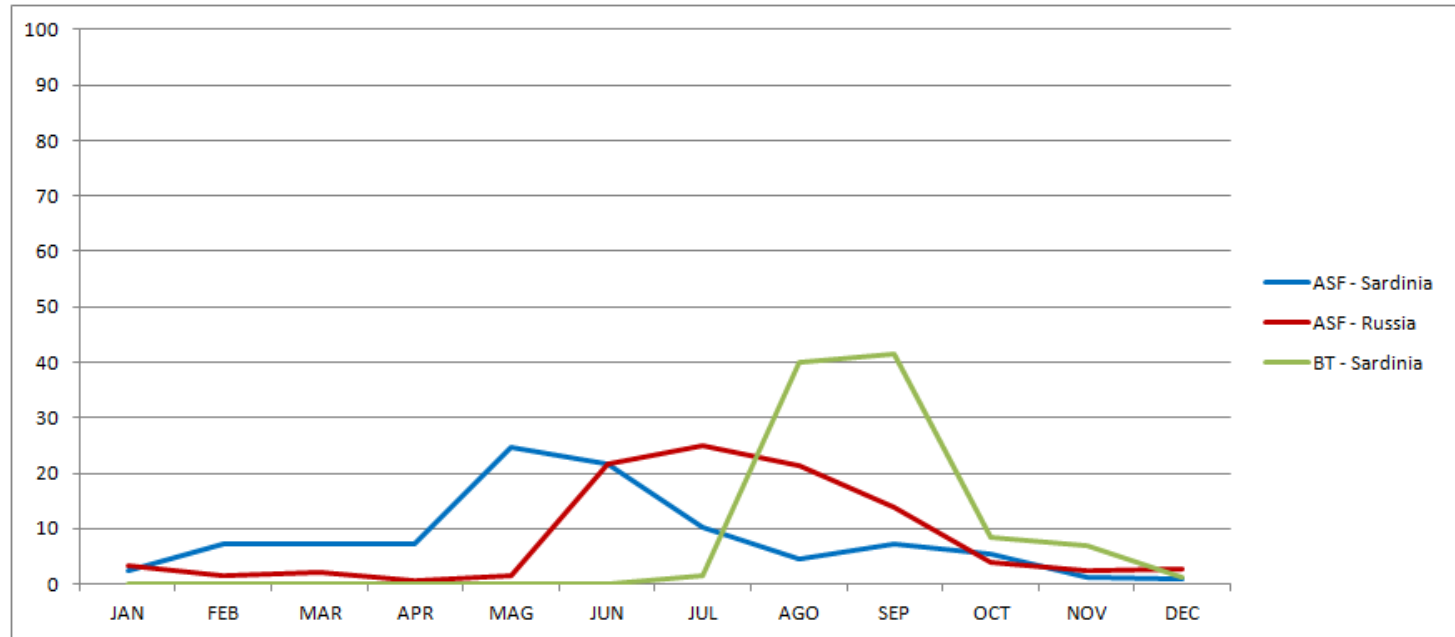
Aziende non commerciali

- ***Divieto alimentazione rifiuti di cucina.***
- ***Nessun contatto tra i suini dell'azienda e altri suidi***
- ***Nessun contatto con parti di suini selvatici (carcasse/carni di cinghiali cacciati o trovati morti).***
- ***Cambio di abiti e disinfezioni all'ingresso dei locali***
- ***Nessun contatto con altre persone non autorizzate***
- ***Macellazione familiare previa visita veterinaria.***
- ***Solo animali da ingrasso in azienda.***

Cinghiali – principali elementi della strategia

- **Nessun incremento della pressione** venatoria/tentativi di diminuire la densità
- Modalità di caccia atte ad **evitare eccessivi movimenti**.
- **Somministrazione di alimenti limitata** e sotto controllo.
- **Divieto di somministrazione prolungata di alimenti**
- **Puo' essere autorizzata l'alimentazione dei cinghiali se** effettuata in modo tale da prevenire la movimentazione di animali da zone infette (aree di 4 Km attorno a ritrovamenti di cinghiali infetti).

SEASONAL TREND (%)



- Time series analysis shows statistically significant differences between each trend.
- Comparison t -test, ANOVA, polynomial regression between trends shows borderline differences between ASF in Sardinia and Russia, and **no difference between ASF-Russia and BT-Sardinia!**
- A similar seasonal trend $ARIMA(2,1,0)(0,1,1)_{12}$ was found between ASF-Russia and BT-Sardinia!



PSA

- La storia
- Un breve ripasso
- La situazione in Sardegna e la nuova strategia di eradicazione
- La situazione nell'Europa dell'Est
- **Il vaccino è in arrivo?**



Un vaccino vivo-attenuato contro la PSA

Problemi

- Sicurezza (effettiva attenuazione)
- Cross-protezione (omologo vs eterologo)
- Migliore comprensione della risposta immune
- Linee cellulari per la produzione
- Sperimentazioni in vivo
- DIVA
- Somministrazione orale ai cinghiali

Obiettivo realistico in sette-dieci anni?



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA
"G. PEGREFFI"



YACHT CLUB COSTA SMERALDA



Thank you

