LATVIJAS BIOZINĀTŅU UN TEHNOLOĢIJU
UNIVESITĀTE
LATVIA UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES AND
TECHNOLOGIES

Veterinārmedicīnas fakultāte
Faculty of Veterinary Medicine

Mg. med. vet. Kristīne Lamberga

ĀFRIKAS CŪKU MĒRA UZLIESMOJUMU STRUKTURĒTAS IZMEKLĒŠANAS UN AGRĪNĀS ATKLĀŠANAS SISTĒMAS IZSTRĀDE MĀJAS CŪKU NOVIETNĒS

DEVELOPMENT OF A STRUCTURED OUTBREAK INVESTIGATION AND EARLY DETECTION FRAMEWORK FOR AFRICAN SWINE FEVER IN DOMESTIC PIG FARMS

Promocijas darba KOPSAVILKUMS
zinātnes doktora grāda (Ph. D.) iegūšanai lauksaimniecības, meža un veterinārās zinātnēs

SUMMARY
of doctoral thesis for the doctoral degree of Doctor of Science (Ph.D.) in Agriculture, Forestry and Veterinary Sciences

Jelgava

2026

Pētījumi veikti / *Research was carried out at:*

Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā "BIOR", Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātē, Pārtikas un veterinārajā dienestā, Latvijā / *Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR"*, *Latvia University of Life Sciences and Technologies*, *Food and Veterinary Service, Latvia.*

Promocijas darba vadītāji / *Supervisors:*

Prof. Dr. **Aivars Bērziņš**, DVM PhD, Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskais institūts "BIOR", Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte, Latvija / *Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR", Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Life Sciences and Technologies, Latvia.*

Prof. Dr. **Arvo Viltrop**, DVM PhD, Veterinārmedicīnas un dzīvnieku zinātņu institūts, Igaunijas Dzīvības zinātņu universitāte, Tartu, Igaunija /*Institute of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Estonian University of Life Sciences, Tartu, Estonia.*

Zinātniskais konsultants / *Scientific consultant*:

Dr. **Klaus Robert Depner**, DMV PhD., Starptautiskās dzīvnieku veselības "Viena veselība" institūts, Frīdriha Leflera institūts, Federālais dzīvnieku veselības pētniecības institūts, Vācija / *Institute of International Animal Health/One Health, Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Institute for Animal Health, Germany.*

Recenzenti / *Official reviewers:*

1. Dr. med. vet., Ph.D **Ivar Vågsholm**, Zviedrijas Lauksaimniecības zinātņu universitātes (SLU) Veterinārmedicīnas un dzīvnieku zinātņu fakultātes profesors, Upsala, Zviedrija / *Dipl. ECVPH, professor, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences, Uppsala, Sweden.*
2. Dr. med. vet., PhD **Tore Skeidsvoll Tollersrud**, Norvēģijas Pārtikas un vides zinātniskās komitejas direktors (izpilddirektors), Oslo, Norvēģija / *Director, Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM), Oslo, Norway.*
3. Dr. med. vet., PhD **Kaspars Kovaļenko**, Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes (LBTU) Veterinārmedicīnas fakultātes profesors, dekāns, Jelgava, Latvija / *Professor, Dean of the Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Life Sciences and Technologies, Jelgava, Latvia.*

Promocijas darba aizstāvēšana notiks LBTU Veterinārmedicīnas zinātnes Promocijas padomes atklātā sēdē 2026. gada 30. oktobrī Veterinārmedicīnas fakultātē (Kristapa Helmaņa ielā 8, Jelgavā) A300 auditorijā plkst. 12:00 / ***Defence of the thesis*** *will take place at an open meeting of the LBTU Doctoral Council in Veterinary Medicine on 30 October 2026 at 12:00, at the Faculty of Veterinary Medicine, Room A300, Kristapa Helmaņa Street 8, Jelgava, Latvia.*

Ar promocijas darbu var iepazīties LBTU Fundamentālajā bibliotēkā Jelgavā, Lielā ielā 2, un internetā https://lbtufb.lbtu.lv / ***The doctoral thesis is available*** *for consultation at the LBTU Fundamental Library, Lielā iela 2, Jelgava, Latvia and online at https://lbtufb.lbtu.lv.*

“Call to Me, and I will answer you, and show you great and mighty things, which you do not know”

“Piesauc Mani, tad Es tevi uzklausīšu un tev atklāšu lielas un brīnišķas lietas, kas tev nebija zināmas”

Jer 33:3

CONTENT/SATURA RĀDĪTĀJS

ABSTRACT....8
ABBREVIATIONS....10
ORIGINAL PUBLICATIONS....11
1. INTRODUCTION....12
1.1. African swine fever: disease overview and epidemiology....12
1.2. ASF control, outbreak investigation and biosecurity....19
2. HYPOTHESIS, OBJECTIVE AND TASKS....24
3. MATERIALS AND METHODS....26
3.1. Study design and study sites....26
3.2. ASF outbreak confirmation and initiation of investigations....26
3.3. Epidemiological outbreak investigations and data collection....27
3.3.1. Hypothesis-based investigation of ASF virus introduction pathways....27
3.3.2. Reconstruction of the high-risk period (HRP)....27
3.3.3. Assessment of within-farm virus spread....28
3.3.4. Collection and interpretation of layperson information....28
3.4. Sampling strategy....29
3.4.1. Targeted sampling approach....29
3.4.2. Categorization of epidemiological units....30
3.4.3. Clinical scoring system....30
3.5. Sample preparation and PCR analysis....31
3.6. Serological investigations (ELISA and IPT)....31
3.7. Rapid pen-side lateral flow device (LFD) testing....31
3.8. Statistical analysis....32
4. RESULTS....33
4.1. Investigation of ASF virus introduction pathways and reconstruction of the high-risk period (HRP)....33
4.2. Assessment of ASF virus spread within pig farms and sampling strategies....37
4.3. Early detection of ASF outbreaks in pig farms....42
4.4. Integrated epidemiological approach to ASF outbreak investigations...43
5. DISCUSSION....45
5.1. Investigation of ASF virus introduction pathways and reconstruction of the high-risk period (HRP)....45
5.2. Assessment of ASF virus spread within pig farms and sampling strategies....48
5.3. Early detection of ASF outbreaks in pig farms....49
5.4. Integrated epidemiological framework of ASF outbreak investigation and control....50
CONCLUSIONS....53
RECOMMENDATIONS....54
ACKNOWLEDGEMENTS....55

ANOTĀCIJA 57
SAĪSINĀJUMI 59
PUBLIKĀCIJAS 60
1. IEVADS 61
1.1. Āfrikas cūku mēris: slimības raksturojums un epidemioloģija 61
1.2. Āfrikas cūku mēra kontrole, uzliesmojumu izmeklēšana un biodrošība 68
2. HIPOTĒZE, MĒRĶIS UN UZDEVUMI 74
3. MATERIĀLI UN METODES 76
3.1. Pētījuma dizains un pētījuma vietas 76
3.2. ĀCM uzliesmojuma apstiprināšana un izmeklēšanas uzsākšana 76
3.3. Epidemioloģiskā uzliesmojumu izmeklēšana un datu vākšana 77
3.3.1. Hipotēzēs balstīta ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana 77
3.3.2. Augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija 78
3.3.3. Vīrusa izplatības novērtēšana novietnes ietvaros 78
3.3.4. Nespeciālistu sniegtās informācijas iegūšana un interpretācija 78
3.4. Paraugu ņemšanas stratēģija 79
3.4.1. Mērķtiecīga paraugu ņemšanas pieeja 79
3.4.2. Epidemioloģisko vienību kategorizācija 81
3.4.3. Klīniskās vērtēšanas sistēma 81
3.5. Paraugu sagatavošana un PĶR analīze 81
3.6. Seroloģiskie izmeklējumi (ELISA un IPT) 82
3.7. Ātrie laterālās plūsmas testi (LFD) 82
3.8. Statistiskā analīze 83
4. REZULTĀTI 84
4.1. ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana un augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija 84
4.2. ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana cūku novietnēs un paraugu ņemšanas stratēģijas 89
4.3. ĀCM uzliesmojumu agrīna atklāšana cūku novietnēs 94
4.4. Integrēta epidemioloģiskā pieeja ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā 95
5. DISKUSIJA 96
5.1. ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana un augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija 96
5.2. ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana cūku novietnēs un paraugu ņemšanas stratēģijas 99
5.3. ĀCM uzliesmojumu agrīna atklāšana cūku novietnēs 100
5.4. Integrēts epidemioloģiskais ietvars ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanai un kontrolei 101
SECINĀJUMI 104
REKOMENDĀCIJAS 105
PATEICĪBA 106
REFERENCES 108

ABSTRACT

African swine fever (ASF) is one of the most important diseases affecting pigs due to its severe socioeconomic consequences, unpredictable cross-border spread, and the absence of effective therapeutic or vaccine-based prophylactic measures. The evolving epidemiological situation of ASF poses a continuous risk to pig farming within the European Union (EU) and in third countries. Since ASF first emerged in the EU in 2014, its spread has represented a major challenge for governmental institutions, industry experts, and various stakeholders.

ASF reached Latvia in 2014 through the eastern border via infected wild boar populations, thereby threatening domestic pig farms. Since then, ASF outbreaks have been detected in domestic pig holdings across Latvia. Although the first outbreaks occurred mainly in backyard farms, the first outbreak in a large commercial pig farm was recorded in January 2017, prompting immediate in-depth epidemiological investigations. Subsequent outbreaks in several commercial pig farms enabled more comprehensive epidemiological investigations under field conditions. This thesis summarizes three epidemiological studies conducted in four large commercial pig farms in Latvia, as well as a fourth study focusing on the opinions of farm workers, farmers, and other lay persons from different ASF-affected countries regarding possible routes of virus introduction.

Our studies were conducted to identify possible sources of virus introduction into the farms, determine the probable time of virus entry, and investigate the internal transmission pathways of the disease. Collectively, these investigations facilitated the development of a structured epidemiological approach for ASF outbreak investigations at the farm level. The biosecurity systems of the affected pig farms were assessed, leading to the development of a hypothesis-based approach for investigating potential pathways of virus introduction. Disease detection systems were analyzed in all study farms to evaluate whether ASF had been detected in a timely manner and to develop recommendations for improving surveillance aimed at earlier detection. By collecting and analyzing information on farming practices, as well as morbidity and mortality data from the study farms, the high-risk period (HRP) of ASF - defined as the time between virus introduction and disease detection - was established. Reconstruction of the HRP served as an important analytical tool linking virus introduction, disease detection, and outbreak control decisions. To assess the extent of infection within affected pig farms, a reliable sampling strategy was developed and applied in one of the studies. Several parameters, including mortality data and the movement of animals, personnel, and vehicles, were analyzed to better understand the mechanisms of virus spread within farms. A separate study investigated the opinions of lay persons regarding possible disease introduction routes into their farms, with particular emphasis on the epidemiological relevance and interpretation of such information.

Our findings demonstrated that ASF virus spread in large commercial pig farms initially occurs slowly. Enhanced passive surveillance was identified as a key tool for early disease detection and proved effective when systematically implemented. Recommendations were developed for the application of enhanced passive surveillance in pig farms to reduce the duration of the HRP. The hypothesis-based approach proved valuable for conducting structured epidemiological investigations of possible virus introduction pathways. The proposed sampling strategy, combining laboratory testing with pen-side diagnostic tests, enabled reliable assessment of ASF spread within different epidemiological units of affected farms. Furthermore, the opinions of lay persons regarding possible disease introduction routes highlighted the subjective nature of such information and emphasized the importance of experienced investigators in its appropriate interpretation during outbreak investigations. Overall, this thesis contributes to the development of a structured framework for ASF outbreak investigation and early disease detection, thereby supporting improved ASF control in domestic pig farms.

ABBREVIATIONS

Ab-LFD Antibody lateral flow device

ADIS Animal disease information system

Ag-LFD Antigen lateral flow device

ASF African swine fever

ASFV African swine fever virus

CSF Classical swine fever

Ct Quantification cycle

DNA Deoxyribonucleic acid

EFSA European Food Safety Authority

ELISA Enzyme-linked immunosorbent assay

EU European Union

EURL European Union Reference Laboratory

FMD Foot and Mouth disease

FVS Food and Veterinary Service

HRP High risk period

IPT indirect immunoperoxidase technique

LFD Lateral flow device

NRL National Reference Laboratory

PCR Polymerase chain reaction

qPCR Quantitative Polymerase chain reaction

rtPCR Real time Polymerase chain reaction

WAHIS World Animal Health Information System

WOAH World Organisation for Animal Health

ORIGINAL PUBLICATIONS

The thesis is based on four original publications (studies I - IV). Roman numerical is used within the text to refer to the publication.

1) Lamberga, K.; Seržants, M.; Oļševskis, E. African swine fever outbreak investigations in a large commercial pig farm in Latvia: A case report. Berl.Munch, Tierarztl. Wochenschr.2019, 132, 151–155

2) Lamberga, K., Oļševskis, E., Seržants, M., Bērziņš, A., Viltrop, A., & Depner, K. (2020). African swine fever in two large commercial pig farms in Latvia - Estimation of the high-risk period and virus spread within the farm. Veterinary Sciences, 7(3), 105. https://doi.org/10.3390/vetsci7030105

3) Lamberga, K., Depner, K., Zani, L., Oļševskis, E., Seržants, M., Ansonska, S., Šteingolde, Ž., Bērziņš, A., Viltrop, A., Blome, S., & Globig, A. (2022). A practical guide for strategic and efficient sampling in African swine fever-affected pig farms. Transboundary and Emerging Diseases, 1–10. https://doi.org/10.1111/tbed.14582

4) Lamberga, K.; Ardelean, F.; Blome, S.; Busauskas, P.; Djuric, B.; Globig, A.; Guberti, V.; Miteva, A.; Oļševskis, E.; Seržants, M.; et al. African Swine Fever Outbreak Investigations - The Significance of Disease-Related Anecdotal Information Coming from Laypersons. Pathogens 2022, 11, 702. https://doi.org/10.3390/pathogens11060702

Contribution of the author

Publication/Study	Contribution	%
I	Designed and conducted the study, drafted the manuscript	70
II	Epidemiological investigation and data analysis, writing - original draft preparation	75
III	Conceptualization, methodology, farm investigations, formal analysis, data curation, and graphs, writing - original draft preparation	75
IV	Conceptualization, writing - original draft preparation, methodology, visualisation	65

1. INTRODUCTION

1.1. African swine fever: disease overview and epidemiology

African swine fever (ASF) is one of the most important animal infectious diseases of pigs due to its severe socioeconomic consequences, unpredictable international spread, and lack of effective treatment or vaccination options. ASF is a notifiable disease.

ASF was first described in Kenya in 1921 (Montgomery, 1921). The first introduction of ASF into Europe was to Portugal in 1957, where it was initially eradicated. However, it was introduced a second time to Portugal in 1960, from where it spread to Spain, becoming endemic in the Iberian Peninsula in the 1970s and 1980s and causing high economic losses. During this period, outbreaks also occurred sporadically in other European and American countries (e.g., the Netherlands, Belgium, France, northern Italy, Cuba, Brazil, the Dominican Republic, and Haiti) but were eradicated. In 1978, ASF was introduced to Sardinia. Since then, the animal disease has been endemic on the island (Mur et al., 2014) until recently, and the Sardinian authorities have succeeded in eradicating the disease (Cappai et al., 2022).

The source of infection in the primary outbreaks was mostly contaminated food waste originating from aircraft and ships involved in international traffic (Mur et al., 2012). Therefore, from an epidemiological perspective, it was concluded that humans are primarily responsible for both the intercontinental and regional spread of ASF through failure in biosecurity measures.

In 2007, ASF entered Georgia via the Black Sea port of Poti, presumably also through contaminated food waste, and spread rapidly in Georgia and in neighbouring Armenia and the Russian Federation. By the end of 2012, several regions in the European part of the Russian Federation were affected (Gogin et al., 2013; Organesyan et al., 2013). In the following years, outbreaks were reported from Ukraine and Belarus. In January 2014, ASF reached the eastern border of the EU, with Lithuania reporting the first ASF-positive wild boar. A month later, the first cases were reported from Poland, in June from Latvia, and in September 2014 from Estonia (EFSA, 2014; Pejsak and Stadejek, 2015). Due to the proximity of the first outbreaks in these countries to the Belarusian border, it can be assumed that ASF was introduced from Belarus to the Baltic States and Poland. However, officially no cases of ASF were reported from Belarus during this period.

Long before the current events in Europe and Asia, at the time when the virus was present in the Iberian Peninsula in addition to Africa, four countries in the Americas were also affected. Besides Cuba, which had the disease twice, in 1971 and 1980, these were the Dominican Republic (1978-1981), Haiti (1978-1983) and Brazil (1978 -1981). Very recently, in the summer of 2021, ASF has been detected for the second time after 40 years in the Dominican Republic.

It is undisputed that the virus was introduced in the Americas by boat or by plane. In other words, it was humans who introduced the virus, and that too in times when the world was not as interconnected as it is today. This transcontinental spread of the pathogen, presumably via ship and aircrafts, is not an exception with ASF, but the rule (EFSA, 2021; Sánchez-Vizcaíno et al., 2013). Sequence analyses of the most recent isolates from the Dominican Republic proved that it is the same virus strain that circulates in Europe and Asia.

It may be a long time since the outbreaks of the 1970s and 1980s in Europe and the Americas, and much has been learned about ASF since then, but it is good to remember that the virus has managed to cross oceans and enter Europe, Asia or the Americas several times with the help of humans. The recent 2021 entry into the Dominican Republic is yet another proof of this.

Historically, three epidemiological cycles were described: (i) the sylvatic cycle in Africa, where the virus is transmitted by soft ticks *(Ornithodoros spp.)* between African wild pigs (mainly warthogs) without causing disease in the vertebrate or arachnid host, (ii) the tick-pig cycle, in which the virus is transmitted between domestic pigs, with *Ornithodoros spp*. ticks serving as vectors, and (iii) the domestic pig cycle, in which the virus is transmitted directly from pig to pig or via contact to contaminated materials, without the involvement of competent arthropod vectors. The vast majority of ASF outbreaks worldwide are attributed to the domestic pig cycle. However, when the disease arrived in the Baltic States and Poland in 2014 the epidemiological role of wild boar became evident, and a fourth infection cycle could be established: the wild boar-habitat cycle (Figure 1.1) (Chenais et al., 2018). These epidemiological characteristics determine the complexity of outbreak investigations.

Figure 1.1 **The epidemiological cycles of ASF. 1 – sylvatic cycle, 2 – tick – pig cycle, 3 – domestic pig cycle, 4 – wild boar habitat cycle** (Chenais et al., 2018)

It should be noted that the epidemiological situation observed in Europe after 2014 differs substantially from that experienced during the genotype I era in the Iberian Peninsula. The currently circulating genotype II viruses are characterized by very high lethality; consequently, control approaches and surveillance concepts that were developed during the earlier European outbreaks were not always directly applicable to the epidemiological conditions observed in the Baltic States and Poland in 2014. In particular, reliance on serological surveillance as an early detection tool proved to be of limited value under conditions where infected animals frequently died before developing detectable antibody responses.

From the point of view of animal disease control and epidemiology, the high tenacity of ASF virus to environmental influences is particularly noteworthy. Putrefaction and sunlight inactivate the ASF virus insufficiently and it remains infectious for several weeks, even under the conditions of the decomposition process. In carcasses and blood, the virus is capable of surviving for months, and in frozen meat, for years (Farez and Morley, 1997; EFSA, 2010). Thus, carcasses of infected animals and contaminated meat and meat products can be important sources of infection. Heat inactivation of ASF virus in meat and meat products occurs at 56 °C for 70 min or 60 °C for 20 min. During processing of meat and meat products, it is inactivated only when a core temperature of 69 °C is reached. The virus is stable in the wide pH range 3.0 to 13.4. Many basic disinfectants do not inactivate the virus, but acid-based ones do. Formic acid and also citric acid

are very effective, the latter even on wood (Krug et al., 2012). Other effective disinfectants include sodium hydroxide (0.8% NaOH, 30 min), hypochlorite (2.3%, 30 min), formalin (0.3%, 30 min), orthophenylphenol (3%, 30 min), and iodine-containing disinfectants.

Considering hosts and vectors, both domestic pigs and wild boar are susceptible for the infection; other domestic species as well as humans are not susceptible. The African warthog is considered the natural reservoir of ASF virus. It does not usually show clinical signs of disease.

In some areas of Africa, as well as in the Iberian Peninsula, soft ticks of the genus *Ornithodorus* are competent vectors of the ASFV and play a major role in the spread of the disease (Oleaga-Perez et al., 1990). In *O. moubata* (occurring in sub-Saharan Africa), both transovarial and transstadial virus transmission occurs, it is fully competent vector. In *O.erraticus* (occurring in the Iberian Peninsula and northern and western Africa), transovarial transmission does not occur, but the virus persists in the tick for up to five years and is transmitted transstadially.

However, the presence of soft ticks is not essential for transmission or maintenance of the infection cycle. In Sardinia as well as in Central and Eastern Europe, there is no evidence so far that ticks are involved in the spread of ASF (EFSA, 2024). In Germany, wild boar sera were tested for the presence of antibodies against soft tick antigens and no evidence of contacts was found (Pietschmann et al., 2016), so it is not expected that soft ticks would be involved in an ASF cycle. Laboratory-based studies on the vector competence of other native ticks (e.g., *Ixodes Ricinus*) revealed no evidence of virus replication (de Carvalho Ferreira et al., 2014).

In the course of outbreak investigations in domestic pig herds, bloodsucking insects are often mentioned as potential mechanical vectors in the absence of clear evidence for the route of introduction. However, there are very few experimental and field studies to support that bloodsucking insects may play an epidemiologically relevant role in the spread of ASF. Mechanical transmission and prolonged detectability of replication-capable virus have been demonstrated for Stomoxys calcitrans (Mellor et al., 1987). A recent field study investigating the role of stable flies and biting midges as potential mechanical vectors of ASF virus concluded that potential role of incidental mechanical vector such as *Culicoides spp.* or *S. calcitrans* transmissions can be possible and further studies are important (Dhollander et al., 2025). Available scientific evidence suggests that stable flies and horse flies are exposed to ASF virus in affected areas in the EU with the capacity to transmit the virus to pigs (EFSA, 2024). Therefore, the relevance of bloodsucking insects to ASF epidemiology under field conditions remains unclear. Evidence is also lacking to observe relationship between ASF outbreak seasonality and the role of blood feeding insects.

In domestic pigs and wild boar, ASF typically manifests as an acute, highly lethal haemorrhagic disease characterised by rapid clinical progression and high case fatality rates. The course of the disease is the same in domestic and wild

pigs. Both sexes and all age groups are equally affected. Susceptible animals become infected when they have direct contact with infected material or with diseased animals, usually by the oral route through consumption of contaminated feed, meat, etc. In areas where *Ornithodorus* ticks may be vectors, infection may occur via tick bites. Blood from viraemic animals is a critical factor from an epidemiological point of view, as one drop of blood can be sufficient for infection since the virus is an "arthropod borne" virus and therefore optimized for transmission by small amounts of blood.

After a relatively short incubation period of a few days, the animals develop a high fever (up to 42 °C), are fatigued and refuse to eat. Pregnant sows may abort due to the high fever. Haemorrhages in the skin and internal organs are often seen in an advanced stage of the disease (OIE, 2019). Death usually occurs within two weeks. Sometimes animals die peracutely without having shown pronounced signs of disease. Based on the clinical picture, ASF cannot be distinguished from severe courses of classical swine fever (CSF) and other severe general diseases in pigs; only laboratory diagnostic tests allow a reliable diagnosis. These non-specific early clinical signs contribute to delayed detection of ASF outbreaks under field conditions.

A special feature of ASF is the fact that infected animals, if they do not already die from the infection in the first two weeks, produce antibodies against the ASF virus, but these have no neutralizing effect and do not provide effective protection. The lack of protective antibodies is also a major reason why there are still no effective ASF vaccines, as the antibodies induced after vaccination are also not sufficiently protective. However, the detection of antibodies in an animal can be used very well epidemiologically. An antibody-positive finding indicates that the infection is at least two weeks old. If no antibodies are found, but only virus antigen or virus genome is detected using PCR, the infection is relatively recently introduced (< 12 days).

Often, ASF is described as a highly contagious diseases, similar as CSF or foot and mouth disease (FMD), in which the viruses are excreted in large quantities via various secretions and excretions. This does not apply to ASF in this way. It is a highly contagious disease only when blood contact is the primary route of transmission.

To summarise, epidemiological analysis of outbreak data indicates high lethality (case fatality) and low mortality in the initial phase of an outbreak and low contagiousness of the ASF virus. Lethality is the proportion of animals that died relative to the number of animals shown to be infected in period X; this is very high in the case of infection with genotype II of ASF virus. Over 90% of infected animals die within two weeks (Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2012; Blome et al., 2013). Practically, this means that almost every animal that becomes infected also dies as a result of the infection. Experimental studies have also demonstrated the high lethality (Pietschmann et al., 2015; Gallardo et al., 2015). However, during the initial phase of African swine fever at the farm level - approximately two to three weeks after virus introduction - overall mortality

may appear low despite high lethality, since only a limited number of animals within the epidemiological unit are affected. Mortality is defined as the proportion of animals that died in relation to the entire population in the period X.

The described epidemiological parameters underline the importance of field studies aimed at better understanding disease transmission dynamics within affected herds and the temporal development of infection at farm level. These epidemiological characteristics determine not only the clinical outcome of infection but also influence the design and implementation of outbreak control and surveillance strategies in affected regions.

These epidemiological patterns are closely linked to the biological characteristics of the ASF virus. ASF is caused by an enveloped double-stranded DNA virus of the *Asfarviridae* family. The virus possesses a complex multilayered structure and a genome encoding more than 150 genes, a substantial proportion of which remain functionally uncharacterized. The virus replicates predominantly in the cytoplasm of infected cells, particularly within perinuclear viral factories, and encodes many of the proteins required for its own transcription and replication. ASF virus shows a marked tropism for cells of the monocyte-macrophage lineage, which plays a central role in its pathogenesis. Infection is associated with dysregulation of the host immune response, including excessive production of proinflammatory cytokines and chemokines, contributing to severe clinical manifestations and high mortality rates. While some immune responses, such as early interferon production and T cell activation, are associated with protection, the mechanisms of protective immunity remain incompletely understood. The virus is characterized by exceptional environmental stability, allowing it to persist for extended periods in contaminated materials such as meat, blood, carcasses, and fomites. This resilience, together with multiple transmission pathways including direct contact, contaminated feed or equipment, and, in some regions, vector-borne transmission, complicates control efforts and contributes to the continued global spread of the disease (Mehinagic and Summerfield, 2026).

To date, 22 genotypes of the ASF virus have been described (Bastos et al., 2003). It should be noted that genotypes do not provide compelling information about virulence. The Sardinian, Iberian, and South American strains of ASF virus all belong to genotype I. In contrast, the virus strains currently circulating in Eastern Europe (Baltic States, Poland, Caucasus, Russian Federation, Ukraine) are classified as genotype II and consequently are not directly related to the Sardinian or Iberian isolates (Gallardo et al., 2009; Gallardo et al., 2014). The current genotype II strains are identical in the routinely sequenced genomic regions and have minimal alterations when the whole genome is considered. However, in the search for discrimination possibilities, recently genome region that shows a pattern of sequence repeats that may make molecular epidemiological assessment possible were described (Gallardo et al., 2014; Goller et al., 2015; Forth et al., 2022).

The epidemiological situation observed in Latvia since 2014 provides a practical example of the described transmission dynamics and infection pressure in affected regions. Since its introduction in 2014, ASF has remained widely distributed in Latvia, with sustained circulation in wild boar populations and recurrent outbreaks in domestic pig herds (Figure 1.2). Currently, ASF cases have been detected in wild boar in almost the whole of Latvia. A total 11.211 wild boar cases and 102 outbreaks in domestic pig herds were recorded between 2014 and 2025, requiring the destruction of 81.590 domestic pigs (FVS website). These figures illustrate the persistent infection pressure from the wildlife reservoir and the ongoing risk of virus introduction into domestic pig holdings.

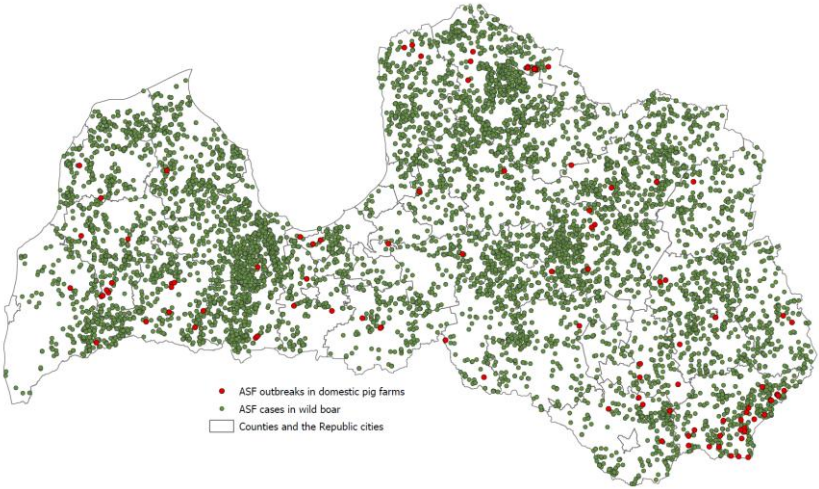


Figure 1.2 **Distribution of ASF cases in wild boar and outbreaks in domestic pig farms in Latvia 2014-2025** (FVS, ASF surveillance data; visualisation using ESRI, ArcGIS Pro 3.1.0 version)

Within the framework of the ASF surveillance and control programme managed by FVS, both - wild boar found dead and hunted wild boar were tested for ASF. An epidemiological temporal and spatial analysis of the results of PCR tests and the results of the studies carried out have shown that the virus prevalence rates of ASF vary from year to year and also from region to region (Oļševskis et al., 2020.; BIOR, 2022). Although the spread of ASF resulted in a rapid reduction of the wild boar population, from about 74.000 individuals in 2013 to about 15.000 individuals in 2015, wild boar remain an ASF reservoir in Latvia and thus posing continuous and permanent threat for domestic pig sector – both for commercial farms and for backyard pigs (Figure 1.3).

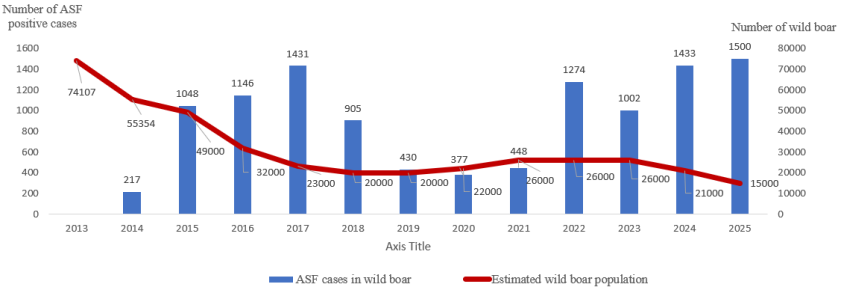


Figure 1.3 **ASF cases in wild boar and estimated wild boar population per year (2013-2025)** (Source: Food and Veterinary Service and State Forest Service)

Under such epidemiological conditions, characterised by continuous virus circulation in wild boar and recurrent spill-over into domestic pig herds, effective surveillance systems and clearly defined outbreak investigation and control measures become essential for limiting further spread of the disease.

1.2. ASF control, outbreak investigation and biosecurity

There are common basic category A disease control principles and requirements in the EU. ASF is a category A disease. Regulation (EU) 2020/687 lays down the basic rules on the disease control measures to apply in the affected pig farms in the event of an outbreak of ASF. EU legislation requires the competent authority to draw up and update contingency plans and provide detailed instruction manuals on implementing measures to be taken in case of ASF outbreak (EC, 2016). Contingency plans must ensure adequate allocation of resources and specify command structures at national, regional and local level. They must cover general support functions such as communication, logistics, human and material resources, as well as preparedness and control measures. The aim of the measures is to enable a rapid and effective response to outbreaks of category A diseases and to prevent the spread of the disease from affected animals and farms to unaffected animals. To provide effective disease control, it is essential to draw up, and keep up to date, detailed instruction manuals. Instruction manuals refer to and describe the operational instructions and procedures to be implemented in the event of an outbreak, to control and eradicate the disease. Instruction manuals contain documents that provide detailed technical guidance and procedures for specific animal diseases. They cover aspects such as disease procedure for notification, diagnostic criteria and capacities, epidemiological enquiries, establishment of the restricted zones and control measures to be applied in the restricted zones, vaccination plans, culling

and disposal, cleaning and disinfection, and repopulation. From a scientific perspective, such preparedness planning is essential because ASF virus is environmentally resistant and capable of spreading through both direct and indirect transmission pathways, requiring coordinated and immediate response measures (EFSA, 2021; WOAH, 2023).

Disease control and biosecurity measures should be applied immediately in the affected farms, particularly as regards movements of animals and products of animal origin. In order to prevent the spread of the infection from the affected pigs and holdings the following measures have to be implemented: isolation of all animals suspected of being infected, ceasing all movements of pigs from or to the establishment; keeping the manure, including litter and used bedding, and any product, material or substance likely to be contaminated until they are disposed of or processed or cleaned and disinfected. Additional biosecurity measures to avoid any risk of spreading the disease must be implemented. Furthermore, a restricted zone (protection and surveillance) around the affected establishment needs to be established to prevent any further spread of the disease. Certain prohibitions of movements of animals and products within, from or through the protection and surveillance zones and the prohibitions of other activities that can pose a risk of spreading the disease are always established by the competent authorities. Control measures applicable within the surveillance zone include specific rules for animals, products obtained from those animals, and other substances and materials that may be contaminated. These measures are scientifically justified by the fact that ASF virus can persist for long periods in organic material such as manure, bedding and contaminated products, and can be transmitted indirectly via fomites, making strict movement control and biosecurity essential to interrupt transmission pathways (EFSA, 2021; WOAH, 2022).

According to the EU legislation each country must have, implement and maintain a system that provides early detection of animal infectious diseases. EU Member States shall ensure that animal owners or keepers and other natural or legal persons immediately notify the competent authority where they suspect the presence of ASF or where the presence of a disease is detected. Veterinary services shall immediately conduct an investigation to confirm or rule out the presence of the suspected ASF (EC, 2019). Legislation requires the competent authority to carry out investigations on the occurrence of a disease at different stages: when the disease is suspected; when the disease is confirmed; and when it is necessary to rule out its spreading to epidemiologically linked establishments and locations. Those investigations include clinical examination and sampling for laboratory testing. Early detection and rapid notification are critical from an epidemiological perspective, as ASF outbreaks are often detected late due to non-specific early clinical signs, and delays in detection significantly increase the risk of further spread (EFSA, 2018).

For ASF outbreaks in pig farms, EU legislation requires also thorough outbreak investigation with the aim of identifying the likely origin of the virus

and the high-risk period (HRP), that is, the estimated time that ASF has been on the farm before detection as well as to obtain information on the likely spread of the disease to other farms (EC, 2002; EC, 2016; EC 2019). EU legislation required (until 21 April 2021) the collection of random blood samples from pigs on the affected holding during the culling process for serological and virological testing. The minimum number of samples required should allow the detection of a seroprevalence of 10% in pigs in each sub-unit of the holding with a 95% confidence level (EC, 2003). Considering that the dominant ASF virus genotype II strains currently circulating are causing a case-fatality rate of >90%, seropositive healthy pigs are rarely found as majority of pigs do not survive the acute phase (Blome et al., 2020). Therefore, considering the circulation of virulent viruses, surveillance based on random serological sampling was no longer recommended as a method to estimate the spread of the virus within an affected farm (EFSA, 2021). The targeted surveillance approach was based on the assumption that infected animals would get sick and die (Busch et al., 2021; Blome et al., 2020). Nevertheless, antibody tests are important by providing additional information about the duration of virus presence on a farm and therefore are always employed.

A mandatory control measure is the killing of pigs that are infected or may be infected or may contribute to the spread of the disease. All animals of susceptible species kept in the affected establishment shall be killed as soon as possible on the spot, within the establishment, in such a way as to avoid any risk of spreading the disease agent during and after killing. Due to that reason all pigs from the outbreak farms independently of their size are killed and their carcasses safely disposed in the rendering plant. Although EU regulation allows to the competent authority to grant derogation from killing all the pigs in the epidemiological units in which the disease has not been confirmed if farm consists of more than one epidemiological unit. Such derogation can be granted only after carrying out a risk assessment, and after obtaining favorable results in laboratory examinations, and provided that the epidemiological enquiry has not revealed any epidemiological link between the epidemiological units in which the disease has been confirmed (EC, 2019). Stamping-out is scientifically justified because ASF has no effective treatment or vaccine available, and infected animals represent a major source of virus shedding; therefore, rapid elimination of infected and potentially exposed animals is essential to remove infection sources and prevent further transmission (WOAH, 2023). Additionally, safe disposal of carcasses is critical, as ASF virus can remain infectious in carcasses for extended periods and contribute to environmental contamination and further spread (EFSA, 2018).

In Latvia all ASF suspected cases are notified to veterinary practitioner or to the veterinary service (FVS). Clinical, post-mortem inspection and sampling are carried out by veterinary practitioners or official veterinarians. Samples for laboratory investigation must be taken and sent to the NRL (MK, 2004). If ASF virus genome or antibodies are detected, the pig is considered infected and

competent authority is in charge to confirm the outbreak. The laboratory costs for ASF investigations are covered by the State budget.

For the purpose of timely detection of outbreaks and due to high lethality (case fatality) and low mortality in the initial phase of an outbreaks and low contagiousness of the ASF virus it was decided to introduce an enhanced passive surveillance system in pig farms located in ASF risk areas. This was a consequence following the investigation of outbreaks in large farms, in particular the outbreak in a commercial farm in Latvia in January 2017. Afterwards the EU legislation was adapted accordingly, introducing the legal requirement to implement and maintain enhanced passive surveillance system. According to the current EU legislation the owner or keeper of the animals shall be obliged to ensure testing each week at least the first two dead pigs over the age of 60 days or, in the absence of such animals, on any dead pig after weaning, in each epidemiological unit (EC, 2023).

The FVS regularly informs the European Commission using ADIS (Animal Disease Information System) and the World Organization for Animal Health (WOAH) using WAHIS system (World Animal health Information System) about ASF cases in wild boar and outbreaks in domestic pig herds (EC, 2020; WOAH WAHIS). This is a way how information about a detected disease and the adopted measures is shared between the countries, allowing the competent authorities to react properly and to provide the necessary awareness of the disease risks and implement preventive measures.

To provide continuous evaluation and awareness of control measures the FVS organizes meetings for veterinary practitioners and official veterinarians, hunters' associations and pig farmers providing updated information about ASF epidemiological situation in wild boar population, and about the ASF outbreaks, the disease control measures and necessity to enforce biosecurity. Frequently media (press, radio and TV) are involved in awareness activities (PVD, 2021). Campaigns are supported by specially prepared videos and booklets containing different information depending on the message to be delivered and the target audience (FVS website 2).

Awareness of the disease is another important precondition to avoid or timely detect the infection. There are different target audiences for awareness campaigns, starting from the public in general, animal keepers, farmers, practicing veterinarians, official veterinarians, hunters etc.

Since there is no vaccine or treatment for ASF, the only way to prevent ASF virus introduction in the herd is the implementation of preventive measures. Biosecurity is the most effective preventive measure. It is a special system that needs to be developed, adopted, implemented and maintained respecting each individual establishment where pigs are kept. All holdings in which pigs are kept must ensure the implementation and compliance with the measures specified in Regulation of Cabinet of Ministers regarding a set of biosecurity measures for kept animals (MK, 2015). In addition, the operators of establishments of kept porcine animals located in ASF restricted zones shall ensure that reinforced

biosecurity measures are implemented in pig farms, to receive the authorization for the movements of pigs within and outside those restricted zones (EC, 2023).

The main biosecurity requirements are as follows: there must be no direct or indirect contact between pigs and wild boar, appropriate hygienic measures such as a change of clothes and footwear on entering and leaving the premises where pigs are kept, washing and disinfection of hands and disinfection of footwear at the entrance to the premises where porcine animals are kept, the absence of any contact with pigs for a period of at least 48 hours after any hunting of wild boar, a prohibition on unauthorized persons or means of transport entering the farms territory, including the premises, where pigs are kept, record-keeping of persons and means of transport accessing the pigs. Buildings where pigs are kept must be built in such a way that no other animals can enter the premises and buildings or have contact with pigs or their feed and bedding material, allow for the washing and disinfection of hands, have appropriate changing facilities for footwear and clothes at the entrance of the stables and stock-proof fencing of at least the premises where the pigs are kept and buildings where feed and bedding are kept.

The commercial farms have to elaborate biosecurity plan approved by the competent authority that include the establishment of the 'clean' and 'dirty' areas for personnel appropriate to the farm typology, such as changing rooms, shower, dining room; the setting up of the logistical arrangements for the entry of new animals into the farm; the procedures for the cleaning and disinfection of the facilities, transport, equipment and personnel hygiene, internal audit or self-evaluation for enforcing the biosecurity measures (EC, 2023; MK, 2015).

Despite the existence of established regulatory frameworks, surveillance systems, outbreak investigation requirements and biosecurity measures, ASF outbreaks in commercial pig farms continue to demonstrate challenges related to early detection, reconstruction of infection events and assessment of disease spread within affected holdings. These challenges underline the importance of strengthening epidemiological investigation approaches capable of providing reliable evidence to support outbreak management and control decisions at farm level. Therefore, there is a need to strengthen early detection approaches and to structure epidemiological investigations in affected pig farms to support evidence-based outbreak management.

2. HYPOTHESIS, OBJECTIVE AND TASKS

Hypotheses of the study:

1) A hypothesis-based epidemiological investigation approach, including structured information obtained from laypersons, can reliably identify the most probable pathways of African swine fever (ASF) virus introduction into pig herds.
2) Targeted sampling strategies based on the definition and categorization of epidemiological subunits, supported by the selection of clinically affected or dead animals and key epidemiological indicators, improve the effectiveness and timeliness of ASF outbreak investigations by enabling the spatial identification and classification of affected and unaffected units within pig farms, while rapid pen-side tests, such as lateral flow devices (LFDs), may serve as supportive tools alongside standard laboratory diagnostic methods (PCR, IPT, and ELISA).
3) Key epidemiological parameters can be systematically identified and applied to accurately reconstruct the high-risk period (HRP) of ASF outbreaks in affected pig farms.
4) ASF outbreaks in commercial pig farms may remain undetected for prolonged periods due to slow and heterogeneous within-farm spread and low initial farm-level mortality, highlighting the need for targeted surveillance for earlier detection.

The aim of this study was to investigate African swine fever (ASF) control strategies by improving and strengthening approaches for early outbreak detection and epidemiological investigations in affected pig farms through the evaluation of existing surveillance systems and outbreak investigation methodologies.

Tasks of the study:

1) To investigate probable pathways of ASF virus introduction into pig herds using a hypothesis-based epidemiological approach and evaluation of information obtained from laypersons (I, IV).
2) To evaluate and develop sampling strategies for assessing ASF virus spread within affected pig farms (II, III).
3) To assess the applicability of pen-side lateral flow device (LFD) tests as supportive diagnostic tools for ASF outbreak investigations and to compare

their performance with standard laboratory diagnostic methods, including PCR, IPT, and ELISA (III).

4) To identify and analyze key epidemiological parameters required for the reconstruction of the high-risk period (HRP) of ASF outbreaks in affected pig farms (I, II).

5) To assess surveillance approaches applied in Latvia with regard to their effectiveness for the early detection of ASF outbreaks (I, II).

3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Study design and study sites

Four interconnected epidemiological studies were carried out in commercial pig farms affected by African swine fever (ASF) in Latvia between 2017 and 2020. The studies focused on ASF virus introduction pathways, early outbreak detection, reconstruction of the high-risk period (HRP), virus spread within the farm, sampling strategies, rapid diagnostic methods, and interpretation of epidemiologically relevant field information.

Study I focused on ASF virus introduction pathways and early outbreak detection in a commercial, farrow-to-finish pig farm with approximately 5000 pigs located in the central part of Latvia.

Study II investigated estimation of the HRP and ASF virus spread within two large commercial farrow-to-finish farms. One farm, located in the south-eastern part of Latvia, housed approximately 6000 pigs, while the second farm, located in the south-western part of Latvia, housed approximately 16,000 pigs.

Study III focused on sampling strategies and their efficiency in ASF-affected farms. The study included three commercial farrow-to-finish farms with approximately 31, 1800, and 9000 pigs, respectively, located in the south-western part of Latvia.

Study IV investigated the significance of disease-related anecdotal information provided by laypersons during ASF outbreak investigations in several European countries, including Latvia.

At the time of outbreak confirmation, all study farms were located in areas under ASF-related restrictions due to virus circulation in wild boar populations (EC, 2014; Oļševskis et al., 2020; EFSA, 2021).

3.2. ASF outbreak confirmation and initiation of investigations

All field investigations were initiated immediately after ASF outbreaks had been officially confirmed by the Food and Veterinary Service of Latvia (FVS). According to national legislation, owners or keepers of pigs are obliged to report suspicion of ASF infection to a veterinary practitioner or to the FVS (MK, 2004).

Following notification, official veterinarians visited the suspected farms and collected blood (EDTA and serum samples in tubes) and tissue (spleen and lymph nodes) samples for laboratory testing in order to confirm or exclude ASF infection. If ASF virus genome or ASF-specific antibodies were detected, the pigs were considered infected, and the outbreak was officially confirmed by the FVS.

Further investigations were performed according to applicable European Union and national legislation regulating ASF outbreak investigations and disease control measures (EC, 2002; EC, 2016).

3.3. Epidemiological outbreak investigations and data collection

As soon as an ASF outbreak was confirmed, epidemiological investigations were initiated. The investigations were based on one or several on-site visits depending on the epidemiological situation in the affected farm.

To collect and cross-check epidemiologically relevant information, interviews were conducted with farm owners, veterinarians, zootechnicians, drivers, and other personnel involved in pig management and farm activities. In addition, farm biosecurity systems and management procedures were assessed.

Records related to animal movements, mortality, treatments, rendering of pigs, in-farm movements of pigs and laboratory test results were reviewed and analyzed.

Additional samples were collected from dead pigs or from live pigs prior to culling for epidemiological investigations and laboratory testing.

3.3.1. Hypothesis-based investigation of ASF virus introduction pathways

To facilitate and structure investigations of possible ASF virus introduction routes, a hypothesis-based epidemiological approach was developed and applied during Study I. Based on known ASF transmission pathways, three working hypotheses for possible virus introduction were formulated - the wild boar hypothesis; the meat/fomite hypothesis; the trade hypothesis.

Each hypothesis was investigated separately by evaluating epidemiological, laboratory, management, and biosecurity information to exclude unlikely transmission routes or identify the most plausible pathway of virus introduction. Assessment included evaluation of farm infrastructure, fences, vehicles, equipment hygiene procedures, internal workflow, movements of personnel, feed and food handling practices and movements of pigs and materials.

3.3.2. Reconstruction of the high-risk period (HRP)

Reconstruction of the high-risk period (HRP) was performed to estimate the probable period during which ASF virus had been circulating within the farm before outbreak detection. To estimate the HRP, timelines of epidemiologically important events were developed using morbidity and mortality data, post-

mortem findings, laboratory test results, clinical observations, animal movement records, information on manure removal, records of in-farm pig movements and biosecurity-related observations.

Clinical findings together with genome and antibody detection results (ELISA and IPT) obtained from live and dead pigs originating from different pens and stables were collected, analyzed, and interpreted to reconstruct the probable spread of the virus within the farms. Particular attention was paid to possible epidemiologically relevant events involving staff hygiene, on-farm food consumption, transport activities, and internal farm management procedures.

3.3.3. Assessment of within-farm virus spread

Assessment of ASF virus spread within affected farms focused on identification of infected epidemiological units and evaluation of transmission patterns within the farm. The following clinical and pathological signs indicating possible ASF infection were evaluated and included: increased body temperature and fever, loss of appetite, abortions, diarrhea, vomiting with blood, hemorrhages in the skin and internal organs, enlarged or hemorrhagic lymph nodes, splenic and renal lesions.

Internal spread of infection between stables, pens, and production units was evaluated using clinical observations, mortality patterns, laboratory findings, and data on internal pig movements. The investigations also evaluated whether virus spread occurred uniformly throughout the farm or remained limited to specific epidemiological units.

3.3.4. Collection and interpretation of layperson information

Study IV evaluated epidemiologically relevant information provided by laypersons during ASF outbreak investigations. Personal views and statements from affected farmers, farm workers, veterinarians, and other individuals involved in farm activities were collected regarding possible ASF virus introduction routes and the probable timing of virus introduction into pig herds. The statements represented subjective opinions of the respondents and were categorized according to their epidemiological plausibility - plausible and requiring further investigation, implausible and rather implausible but not fully excludable.

The statements were interpreted together with epidemiological, laboratory, clinical, and biosecurity investigation findings.

3.4. Sampling strategy

3.4.1. Targeted sampling approach

Sampling for laboratory investigations was performed in each ASF outbreak farm included in the studies. Blood (EDTA and serum samples in tubes) and tissue samples (spleen and lymph nodes) were collected from pigs located in different stables and epidemiological units to assess ASF virus spread within the farm and reconstruct possible transmission pathways. Targeted purposive sampling was applied. Samples were primarily collected from clinically affected pigs, dead pigs and pigs with direct epidemiological contact with infected or suspected animals. Targeted sampling focused on selection of suspicious, sick, and dead pigs for laboratory testing.

Figure 3.1 **Examples of clinically affected pigs identified during targeted outbreak investigations in ASF-affected farms: clinically sick sows showing haemorrhages in ears and loss of appetite** (photo: K. Lamberga)

Figure 3.2 **Examples of clinically affected pigs identified during targeted outbreak investigations in ASF-affected farms: clinically sick sows and abortion and enlarged spleen of ASF infected pig** (photo: K. Lamberga)

3.4.2. Categorization of epidemiological units

A structured three-step sampling strategy was developed and applied during Study III, including identification of epidemiological subunits, categorization of subunits according to likelihood of infection and targeted selection of animals for testing.

For each epidemiological subunit, a category was assigned depending on the probability of ASF virus circulation based on clinical findings, mortality patterns, epidemiological links and previous laboratory findings.

Clinical inspection of pigs in all epidemiological subunits was performed before targeted selection of animals for sampling. All pigs showing clinical signs and pigs having direct contact with clinically affected animals were sampled.

3.4.3. Clinical scoring system

A clinical scoring system was developed and applied during Study III for evaluation of clinical findings and interpretation of rapid pen-side test results. Sampled pigs were classified according to severity of clinical signs into the following categories: clinically inconspicuous, mild clinical signs, severe clinical signs and dead pigs.

Laboratory and rapid diagnostic test results were analyzed and compared with the clinical scores.

3.5. Sample preparation and PCR analysis

All EDTA blood and tissue samples were stored, prepared, and processed according to the standard operating procedures of the NRL in a laminar flow cabinet.

Organ samples intended for nucleic acid detection were mechanically homogenized following dilution in phosphate-buffered saline (PBS) at a ratio of 1:10.

Viral DNA extraction was performed using the NucliSENS® easyMAG® automated nucleic acid isolation system (bioMérieux, France) according to the manufacturer's instructions. A heterologous internal control DNA (intype IC-DNA; QIAGEN, Germany) was used to assess extraction quality as previously described by Hoffmann et al. (2006).

Polymerase chain reaction (PCR) for ASFV genome detection was performed according to the protocol of the European Union Reference Laboratory for ASF (Fernández-Pinero et al., 2013).

Results were recorded as quantification cycle (Ct) values and interpreted as positive or negative according to the obtained Ct values.

3.6. Serological investigations (ELISA and IPT)

Serological investigations were performed to detect ASF virus specific antibodies. The commercially available Ingezim PPA Compac blocking ELISA kit (11.PPA.K.3, Ingenasa, Madrid, Spain) was used for testing serum samples according to the manufacturer's instructions. In addition, immunoperoxidase testing (IPT) was performed on serum samples or organ fluid samples according to the protocol of the European Union Reference Laboratory for ASF (European Union Reference Laboratory for ASF, 2018). IPT was used to detect low antibody titres that could not be identified by ELISA.

Combined interpretation of virological and serological test results was applied during epidemiological investigations. Detection of ASF virus genome by qPCR together with positive IPT and negative ELISA results in dead pigs was interpreted as indicating recent infection, likely within approximately 10 days prior to sampling.

3.7. Rapid pen-side lateral flow device (LFD) testing

Rapid pen-side lateral flow device (LFD) tests were evaluated under field outbreak conditions during Study III. Two types of LFD tests, including an antigen LFD for detection of ASFV antigen in whole blood samples and an antibody LFD for detection of ASFV-specific antibodies were used.

For antigen detection, the INgezim PPA CROM Ag LFD (11.ASF.K.42, Ingenasa, Madrid, Spain) was used. For antibody detection, the corresponding INgezim PPA CROM Ab LFD (11.PPA.K.41, Ingenasa, Madrid, Spain) was used. Both tests were performed according to the manufacturer's instructions. Results obtained under field conditions were compared with standard laboratory methods including qPCR, ELISA, and IPT.

Figure 3.3 **Performing LFD testing in the field during ASF outbreak investigation** (photo: M. Seržants)

3.8. Statistical analysis

Diagnostic sensitivity and specificity of antigen LFD tests were calculated separately for each farm included in Study III using qPCR results as the reference standard.

Sensitivity was calculated as true positive / (true positive + false negative) and specificity was calculated as true negative / (true negative + false positive).

Confidence intervals for sensitivity and specificity estimates were calculated using Epitools Epidemiological Calculators (Sergeant, 2018).

Spearman correlation analysis was performed using XLSTAT statistical software for Microsoft Excel (Addinsoft, 2019) to assess correlations between clinical scores and laboratory test results.

Combined interpretation of clinical, epidemiological, virological, and serological findings was applied throughout the investigations to reconstruct outbreak dynamics and support epidemiological decision-making.

4. RESULTS

4.1. Investigation of ASF virus introduction pathways and reconstruction of the high-risk period (HRP)

ASF was confirmed in the study farm in mid-January 2017. The animals were kept in seven separate stable buildings. The stable where the first clinically affected pigs were identified housed group-kept pregnant sows. Retrospective evaluation of post-mortem records revealed that the first dead sow could be traced back to 28 December 2016. Another four pigs became clinically ill on 4 January and died two days later. Additional dead sows were identified on 6, 9, 11, 12, and 13 January. In the meantime, several sows had been moved on 9 January to another stable for farrowing, and two of these animals were subsequently found dead on 12 and 13 January, suggesting possible virus introduction into the farrowing unit through movement of infected animals. The first dead boar in a separate breeding unit was identified on 7 January, followed by another on 14 January. The first laboratory testing for ASF virus was performed on pigs that died on 13 January. At the time of outbreak confirmation, 17 sows had already died. A worker responsible for insemination duties was identified as having daily contact with all three affected stables.

To support outbreak reconstruction and estimation of the HRP, a timeline integrating morbidity, mortality, post-mortem findings, pig movement records, and laboratory testing results was developed. Of the 75 sampled animals, ASF virus genome was detected in 23 pigs, while none of the tested animals were positive for ASF antibodies. The absence of antibodies indicated an acute course of infection. Based on the collected epidemiological and laboratory information, the estimated time of virus introduction into the farm was approximately six weeks before outbreak confirmation.

The observed virus spread within the farm was slow during the early phase of infection. Following outbreak confirmation, an additional 50 samples were collected from pigs in the affected sow unit, and only four animals tested positive for ASF virus genome detection.

Assessment of farm biosecurity showed that the farm infrastructure was generally well developed. The holding was fenced, vehicles entering the territory passed through sanitary control points, and dedicated farm clothing and footwear were available for staff. However, no sanitary filters were present at the entrances to pig stables. Epidemiological investigations and interviews revealed several weaknesses in implementation of biosecurity procedures. The layout of changing and resting rooms did not ensure effective separation between clean and dirty areas. Farm workers were allowed to bring food onto the premises and consume it within the production area. In addition, documentation regarding truck disinfection procedures during the winter period was incomplete.

A hypothesis-based epidemiological investigation approach was applied to evaluate possible ASF virus introduction pathways. Three possible introduction hypotheses were assessed: the wild boar hypothesis, the meat/fomite hypothesis, and the trade hypothesis.

The wild boar hypothesis was considered unlikely because the pigs were housed indoors, the farm was fenced, and no direct or indirect contact with wild boar could be identified. No bedding material or feed with possible wild boar contact had been used, and none of the farm personnel participated in hunting activities.

The meat/fomite hypothesis was considered the most likely route of virus introduction. Epidemiological investigations identified insufficient staff hygiene barriers and the possibility that contaminated meat products may have been brought onto the farm and subsequently introduced into pig areas. Furthermore, substantial staff turnover during the previous months raised concerns regarding awareness of ASF transmission risks and biosecurity compliance.

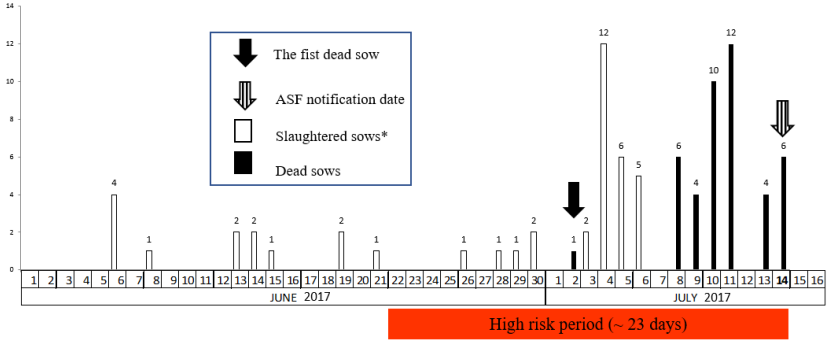
The trade hypothesis was excluded because no pigs had been introduced into the farm during the previous 12 months. However, piglets had been moved from the affected breeding farm to a fattening farm belonging to the same owner during the estimated HRP. Subsequently, ASF was confirmed in the receiving farm and classified as a secondary outbreak.

During epidemiological investigations conducted in Latvia and several other ASF-affected European countries, information and opinions provided by farmers, farm workers, veterinarians, and other persons involved in farm activities were collected and evaluated in the context of possible ASF virus introduction routes. In total, 31 statements regarding possible virus introduction pathways were analyzed for their epidemiological relevance. Many statements were considered epidemiologically important and required further investigation, whereas others could be excluded immediately as implausible. A substantial proportion of the statements (n=13) were classified as rather implausible but not fully excludable. The investigations demonstrated that interpretation of such subjective information requires epidemiological expertise, outbreak investigation experience, and structured communication approaches.

To further investigate outbreak dynamics, additional epidemiological investigations were performed in two other ASF-affected commercial pig farms (Farms A and B), focusing on reconstruction of the high-risk period (HRP) and assessment of virus spread within affected holdings.

In Farm A, ASF was confirmed on 14 July 2017. The farm consisted of seven indoor stables. Severe clinical signs, including fever, abortions, and vomiting, were observed only in one stable housing group-kept pregnant sows. According to anamnesis data, the first dead sow had already been identified on 2 July following abortion. Between 2 July and outbreak confirmation, 43 sows died. An additional 25 sows were sent to slaughter due to health problems. The disease also spread to the farrowing stable after infected sows had been moved from the affected unit. Dead sows were subsequently identified in the farrowing unit on 7,

8, and 9 July. The reconstructed timeline of epidemiologically important events in Farm A and the estimated HRP are presented in Figure 4.1.



* Periodic slaughter of sows was performed within the farm in June, while sudden increase in numbers of slaughtered sows was observed from the 4th of July, but it neither can be proven or excluded that ASF was the cause for slaughtering.

Figure 4.1 **Timeline of the disease event in Farm A, stable 2 and the estimated high-risk period**

In Farm A, the sow that died on 2 July was considered the index case. Assuming an average survival period of approximately 10 days after infection, the estimated virus introduction date was around 22 June, resulting in an estimated HRP of approximately 23 days. More than two infection cycles were assumed to have occurred before outbreak detection. The probable spread of ASF virus between the stables in Farm A is illustrated in Figure 4.2.

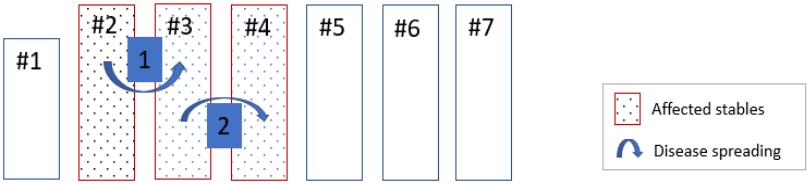


Figure 4.2 **Potential spread of ASF virus between the stables in a Farm A**

In Farm B, ASF was confirmed on 31 July 2018. The farm consisted of two geographically separate production locations. Enhanced passive surveillance was already implemented at the time of outbreak occurrence. Three dead weaners identified on 29 July were tested for ASF virus and found PCR positive. These pigs had previously been moved together with 277 other weaners from location B1 to location B2 on 23 July. After movement, mortality increased in the recipient group in location B2, whereas no increased mortality was observed in the remaining pigs in the source unit. A slight increase in mortality was observed

in another stable of location B1 from mid-July onwards. Mortality data from stable 4 of location B1, which were used as part of the HRP reconstruction process, are presented in Figure 4.3.

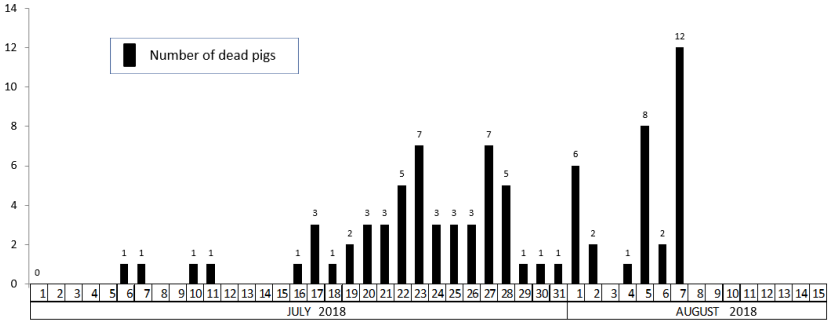


Figure 4.3 **Mortality data in stable 4 of Location B1**

The reconstructed timeline of epidemiologically important events in location B2 is presented in Figure 4.4.

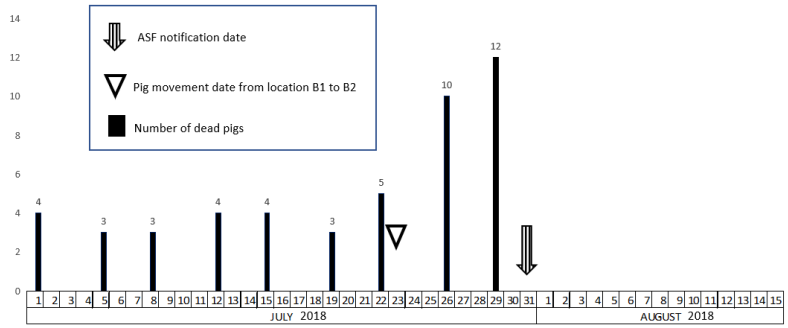


Figure 4.4 **Timeline of the disease event in the stable where the first ASF positive pigs were detected (location B2)**

In Farm B, the pigs found dead on 29 July were considered index cases. Based on combined virological and serological results, the estimated HRP was approximately two weeks. Because the pigs were PCR positive and antibody positive, infection was estimated to have occurred 7–10 days before death. Therefore, the estimated HRP was between 18 and 31 July. The probable spread of ASF virus between stables and locations in Farm B is illustrated in Figure 4.5.

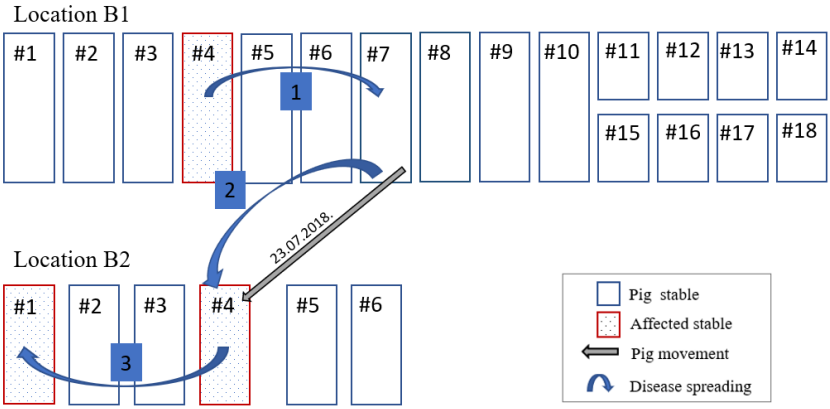


Figure 4.5 **Potential spreading of ASF virus between the stables in a Farm B**

Movement records and laboratory findings suggested that infection initially developed in stable 4 of location B1 and subsequently spread to location B2 through movement of infected weaners. Further spread between stables was considered most likely to have occurred through contaminated fomites.

4.2. Assessment of ASF virus spread within pig farms and sampling strategies

Assessment of ASF virus spread within affected pig farms demonstrated heterogeneous distribution of infection between epidemiological units. Although epidemiological links between production units existed, several units remained free from detectable infection even during prolonged high-risk periods.

Following outbreak confirmation in Farms A and B, additional epidemiological investigations and targeted sampling were performed to evaluate the extent of ASF virus spread within the affected holdings. Samples were collected from pigs in different stables and epidemiological units before culling. The obtained laboratory results enabled identification of affected and non-affected units within the farms.

In Farm A, samples were collected from pigs in all seven stables before depopulation. Three out of seven stables were identified as epidemiologically affected. ASFV genome was detected mainly in stables housing sows, whereas most fattening units remained negative. The distribution of virological and serological results between the different stables of Farm A is presented in Table 4.1.

Table 4.1

RT PCR and serology results of pigs from Farm A sampled in different stables before culling

Stable Id	Number of pigs in the stable	Category of pigs	Number of samples taken in a stable	Laboratory testing results	
				RT PCR positive	Serology (ELISA, IPT) positive
1	213	Boars, sows	**3**	0	0
2	301	Sows *	4	4	2
3	696	Sows **	28	10	0
4	1761	Weaners	28	1	0
5	1157	Fatteners	29	0	0
6	1136	Fatteners	28	0	0
7	554	Fatteners	20	0	0
Total	5818	N/A	140	15	2

* Sows kept in group pens. ** Sows kept with piglets.

The investigations further demonstrated that spread of ASF virus within the farms was not uniform. In Farm A, epidemiological investigations suggested that infection initially developed in stable 2 and subsequently spread to the farrowing unit following movement of infected sows. Similarly, in Farm B, movement records and laboratory findings suggested that infection initially developed in stable 4 of location B1 and subsequently spread to location B2 through movement of infected weaners. Further spread between stables was considered most likely to have occurred through contaminated fomites. Despite existing epidemiological links between production units, several stables remained free from infection. The probable spread of ASF virus between production units in Farms A and B is illustrated in Figures 4.2 and 4.5, respectively.

To further evaluate within-farm transmission patterns and improve assessment of infection distribution, a targeted sampling strategy based on subdivision of farms into epidemiological subunits was applied in Study III. All study farms were divided into epidemiological subunits, which were subsequently categorized according to the probability of ASF infection. Clinical inspection of pigs in all subunits was performed prior to sampling. The categorization of epidemiological subunits and corresponding laboratory results are summarized in Table 4.2.

Table 4.2

Overview of testing results by the categories of farm sub-units

Category of farm subunit	Number of tested animals	Ag-LFD+	qPCR+ Ct<18	qPCR+ Ct>18	Ab-LFD+	ELISA+	IPT+
FARM A							
1	21	3	2	3	2	2	3
1	6	0	0	0	0	0	0
FARM B, unit B1							
1	4	3	3	0	0	0	0
2	11	1	1	4	0	0	1
3	5	1	1	0	0	0	1
FARM B, unit B2							
3	15	1	2	4	0	0	4
FARM C							
1	11	7	7	4	0	0	6
2	4	0	0	0	0	nd	nd
3	1	0	0	0	0	nd	nd
4	18	1	1	1	0	0	0

Application of the targeted sampling strategy enabled successful identification of infected epidemiological units within the affected farms. In Farm A, infected pigs were identified in one epidemiological unit, while another epidemiologically linked unit remained ASF negative. In Farm B, both farm units were affected. In Farm C, ASF-infected pigs were identified in three out of nine epidemiological subunits.

The investigations further demonstrated that purposive sampling of clinically affected and dead pigs enabled effective identification of epidemiologically affected units. Even in farms with prolonged HRP, several pens remained free from detectable ASF infection.

To evaluate rapid diagnostic testing under field outbreak conditions, 87 animals were additionally tested using antigen lateral flow devices (Ag-LFD) and compared with laboratory qPCR results. Of these animals, 17 were positive in Ag-LFD testing, whereas 34 were positive by qPCR. All qPCR-negative samples were also negative in Ag-LFD testing, resulting in a relative Ag-LFD specificity of 100%. Relative sensitivity compared with qPCR was 50% (CI 34.66%). Due to the low number of antibody-positive samples, diagnostic sensitivity and specificity of antibody LFD tests could not be calculated.

Comparison of qPCR Ct values and Ag-LFD-positive samples is presented in Figure 4.6. Ct values of Ag-LFD-positive samples ranged from Ct 14 to Ct 18, with a median Ct value of 17.

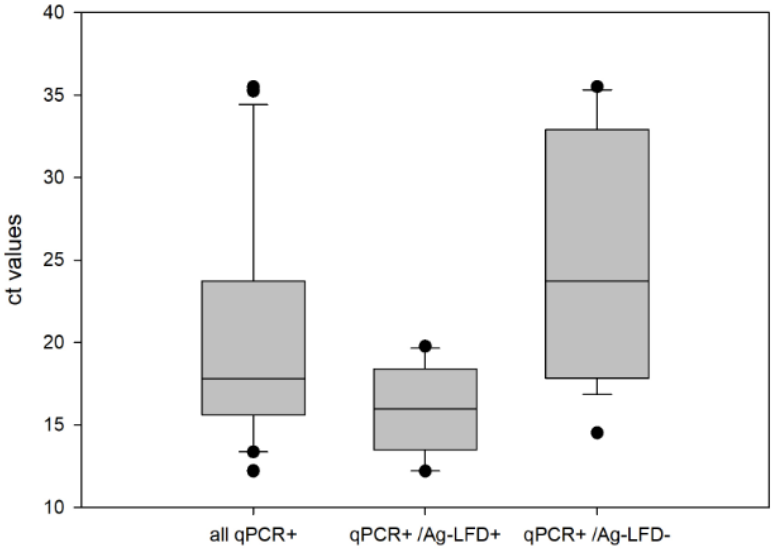


Figure 4.6 **Comparison of Ct-values for all tested blood samples, samples that were qPCR and Ag-LFD positive and samples that were qPCR positive but Ag-LFD negative**

Evaluation of clinical findings demonstrated that neither Ag-LFD nor qPCR produced positive results in clinically inconspicuous pigs. Positive laboratory and Ag-LFD results were detected only in pigs showing clinical signs. Distribution of ASF-positive pigs according to clinical score categories is presented in Figure 4.7.

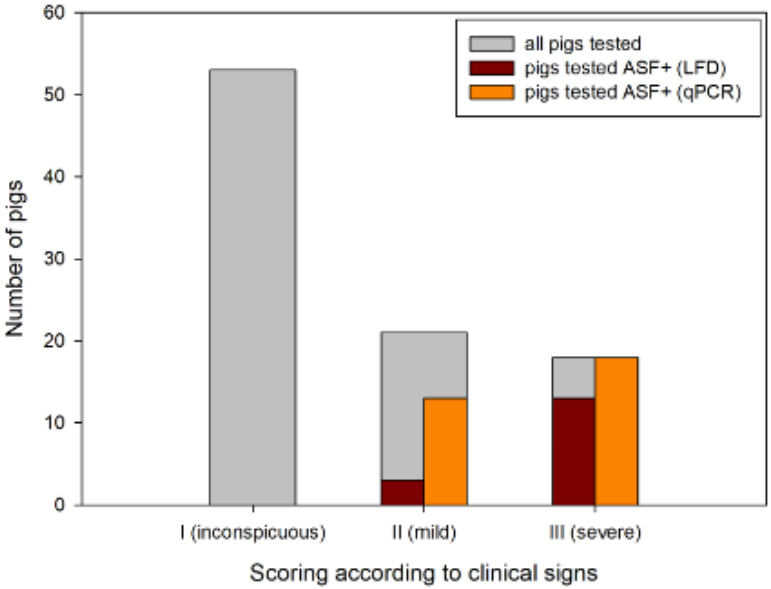


Figure 4.7 **Pigs tested positive for ASF (qPCR, Ag-LFD) depending on clinical score**

Correlation analysis demonstrated statistically significant associations between Ag-LFD results and clinical score, qPCR results and clinical score, as well as between antibody LFD and ELISA results. Results of the Spearman correlation analysis are presented in Table 4.3.

Table 4.3

Spearman correlation matrix for different ASF test results and ASF clinical score

Variables	Ag-LFD	Ab-LFD	qPCR	ELISA	IPT	Clinical score
Ag-LFD	**1**	0.008	0.246	0.008	0.271	**0.531**
Ab-LFD	x	**1**	0.065	**1.000**	0.296	0.227
qPCR	x	x	**1**	0.065	0.218	**0.469**
ELISA	x	x	x	**1**	0.296	0.227
IPT	x	x	x	x	**1**	0.201
Clinical score	x	x	x	x	x	**1**

Values in bold are different from 0 with a significance level $p<0.05$

4.3. Early detection of ASF outbreaks in pig farms

The investigations demonstrated substantial differences in outbreak detection dynamics between the investigated farms and showed that ASF virus circulation in large commercial pig farms may remain undetected for prolonged periods during the early phase of infection. This was demonstrated in three different outbreak investigations included in the studies.

The January 2017 outbreak investigation demonstrated that ASF virus circulation within the affected farm remained undetected for several weeks before official confirmation. Epidemiological reconstruction indicated that the virus had been circulating for approximately six weeks prior to outbreak detection.

A similar retrospective analysis was performed in Farm A, where ASF was officially confirmed on 14 July 2017. Retrospective epidemiological investigations demonstrated that clinical signs and increased mortality had already been present before outbreak confirmation. According to anamnesis and mortality records, the first dead sow was identified on 2 July following abortion. During the following days, additional dead animals and abortions were recorded, and infected sows had already been moved between production units. The estimated HRP in Farm A was approximately 23 days.

The investigations demonstrated that mortality initially increased slowly and remained limited to a relatively small number of animals during the early phase of infection. This complicated timely outbreak recognition and allowed prolonged virus circulation within the farm before official confirmation.

In Farm B, ASF was confirmed on 31 July 2018. Three dead weaners identified on 29 July were tested for ASF virus and found PCR positive. These pigs had previously been moved together with 277 other weaners from location B1 to location B2 on 23 July. At the time of outbreak detection, widespread clinical signs and a marked increase in mortality had not yet been observed. ASF was identified through the implemented enhanced passive surveillance system, whereby dead pigs were tested weekly in the laboratory.

The reconstructed timeline of epidemiologically important events in location B2 is presented in Figure 4.3, while mortality data recorded in stable 4 of location B1 are presented in Figure 4.4.

The investigations demonstrated that the early stages of ASF outbreaks in large commercial pig farms may be characterized by slow virus spread and low mortality, resulting in delayed outbreak recognition.

Comparison of the investigated outbreaks demonstrated that systematic laboratory testing of dead pigs (enhanced passive surveillance) enabled earlier detection of ASF outbreaks before widespread clinical signs or substantial increases in mortality became evident.

4.4. Integrated epidemiological approach to ASF outbreak investigations

The investigations included assessment of possible ASF virus introduction pathways, reconstruction of the high-risk period (HRP), evaluation of within-farm virus spread, targeted sampling, laboratory investigations, and collection of epidemiologically relevant field information.

Hypothesis-based epidemiological investigations were applied to assess possible ASF virus introduction routes and evaluate their plausibility. Information and opinions provided by laypersons during outbreak investigations were collected and analyzed in the context of their epidemiological relevance.

Reconstruction of the HRP was performed using mortality records, clinical observations, laboratory results, animal movement data, and biosecurity information.

Assessment of within-farm virus spread, and application of targeted sampling strategies enabled identification of affected and non-affected epidemiological units within outbreak farms. Rapid pen-side diagnostic tests (LFDs) were evaluated under field outbreak conditions and compared with standard laboratory diagnostic methods.

Comparison of the investigated outbreaks showed differences in outbreak detection timing between farms and demonstrated prolonged undetected ASF virus circulation during the early phase of infection in some outbreaks.

5. DISCUSSION

5.1. Investigation of ASF virus introduction pathways and reconstruction of the high-risk period (HRP)

Our investigations demonstrated that human-mediated pathways and biosecurity failures were the most probable mechanisms of ASF virus introduction into affected pig farms. Furthermore, reconstruction of the high-risk period (HRP) proved essential for understanding outbreak dynamics and identifying secondary transmission risks.

The hypothesis of virus introduction via fomites and contaminated meat appeared to be the most likely route of infection, as infectious material could have entered the farm through staff or visitors. These findings emphasize the importance of maintaining awareness of disease transmission risks and implementation of biosecurity measures among different target groups involved in pig production. Human-related activities therefore require continuous attention within ASF prevention strategies. Our investigations confirmed that inadequate biosecurity remains one of the major risk factors for ASF introduction into pig farms and demonstrated that a structured, hypothesis-based epidemiological approach provides a useful methodological framework for outbreak investigations.

Good on-farm biosecurity is considered the most effective means of preventing ASF virus introduction into domestic pig holdings (Bellini et al., 2016). Following the first ASF cases detected in wild boar and domestic pigs in Latvia in 2014, national biosecurity requirements for pig holdings were gradually strengthened. However, field experience demonstrated that implementation of biosecurity measures was particularly challenging for many pig farmers, especially in smaller farms and backyard holdings, where biosecurity previously had not been systematically applied. In addition to financial investments in infrastructure, equipment, and farm fencing ("hardware"), effective biosecurity also requires implementation of appropriate management procedures ("software"), including hygiene measures, internal workflow organization, staff awareness, and compliance with daily routines. Our observations indicated that the "software" component represented the greatest long-term challenge, as maintaining awareness and changing habitual behavior requires continuous education, monitoring, and commitment.

When ASF outbreaks occur, epidemiological investigations must identify the most probable route of virus introduction into the holding. Such investigations require assessment of the entire farm system, including buildings, vehicles, equipment, fencing, animal movements, personnel movements, and management procedures linked to biosecurity implementation. In addition to biosecurity assessment, epidemiological investigations frequently rely on indirect

epidemiological information, including observations and opinions provided by persons involved in farm activities.

Various pieces of information provided by laypersons during outbreak investigations were examined in greater detail. Farmers, farm workers, zootechnicians, and veterinary practitioners are commonly interviewed to obtain their opinions regarding possible virus introduction routes and the probable timing of introduction. Although these individuals may not possess detailed epidemiological knowledge of ASF, their observations and suspicions may provide useful contextual information. Numerous statements collected during outbreak investigations were therefore evaluated according to their potential epidemiological relevance and the need for further investigation.

However, interpretation of such subjective information is often difficult and requires careful evaluation in the context of clinical findings, biosecurity assessments, laboratory test results, and other epidemiological data. Some statements may appear highly speculative or initially seem to have little value, while others may represent important epidemiological clues. In some situations, anecdotal or misleading information may also be encountered (Trotta et al., 2022). Furthermore, farm representatives may be reluctant to discuss possible failures in biosecurity implementation due to concerns regarding legal responsibility for the outbreak. These findings highlight the importance of trained investigators with expertise in ASF epidemiology, communication skills, and knowledge of legal requirements. Structured questionnaires and systematic interview approaches may improve the quality and consistency of information obtained during epidemiological investigations. Most statements collected during investigations were related to human activities, particularly in smaller farms, further emphasizing the central role of human-mediated pathways in ASF spread (Zani et al., 2019; Ardelean et al., 2021).

While identification of virus introduction pathways represents a critical component of outbreak investigations, understanding how long the virus has been circulating within the farm is equally important for evaluating the extent of exposure and the potential for secondary transmission. Therefore, reconstruction of the HRP becomes an essential analytical component of epidemiological investigations.

Our investigations demonstrated that ASF outbreaks in large commercial pig farms may remain undetected for prolonged periods, often involving more than one infection cycle before disease suspicion and laboratory confirmation. These findings highlighted the importance of distinguishing the incubation period from the HRP, as these concepts are frequently confused even among veterinary professionals. In the case of ASF, particularly in large commercial farms, several transmission cycles may occur before clinical suspicion arises.

The investigations showed that only a few animals died during the initial phase of the outbreaks and that mortality increased gradually over the following weeks. This observation suggests that ASF transmission within large pig farms initially occurs relatively slowly. At the beginning of infection, only a limited

number of animals become infected, and time is required before sufficient environmental virus contamination develops to support wider transmission within the holding. Efficient transmission occurs when infected pigs begin to bleed, abort, or die, thereby exposing susceptible pigs to blood and other infectious excretions (Pietschmann et al., 2015). Experimental studies with genotype II ASF virus have demonstrated that one infection cycle, from infection to death, lasts approximately 10 days (Guinat et al., 2016; Pietschmann et al., 2015; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013).

Field observations in Latvia and experimental studies further demonstrated that ASF contagiousness is lower than commonly assumed (Pietschmann et al., 2015). In 2014, 32 ASF outbreaks in Latvia were investigated. In 12 farms, all pigs were still alive when official veterinarians arrived, whereas in 20 farms one or more pigs had already died. Nevertheless, laboratory testing demonstrated that clinically healthy pigs housed in the same pen or barn had frequently not yet become infected with ASF virus (Oļševskis et al., 2016). These findings demonstrate that substantial delays may occur between infections of individual animals and that transmission to other pigs often occurs only after infected animals have died.

The methodology developed for HRP reconstruction, and the associated analytical approach are presented in Studies I and II. Timelines were established to reconstruct the probable course of infection within the farms. Various epidemiologically relevant data were collected and analyzed, including anamnestic information, morbidity and mortality records, post-mortem findings, laboratory results, internal pig movements, manure removal activities, and biosecurity-related observations. Particular attention was paid to staff-related risk factors, including hygiene practices, food consumption on farms, awareness of disease transmission risks, and transport vehicle movements. Relevant vulnerabilities identified during investigations were integrated into the analytical timelines.

The approach proved useful for systematic HRP estimation and provided important operational value for outbreak management. Reconstruction of the HRP enabled the competent authority to trace potential secondary outbreaks, monitor the health status of pigs moved to other farms or slaughterhouses during the HRP, and identify potentially contaminated meat products requiring recall. However, reconstruction of the HRP alone does not fully explain outbreak dynamics. To support operational decision-making, the spatial and structural distribution of infection within affected farms must also be assessed.

5.2. Assessment of ASF virus spread within pig farms and sampling strategies

Our investigations demonstrated that ASF spread within large commercial pig farms was frequently heterogeneous, with some epidemiological units remaining unaffected even during prolonged high-risk periods. This finding highlighted the need for targeted sampling strategies to accurately assess within-farm virus distribution.

Assessment of virus spread within affected farms is essential not only for understanding outbreak dynamics but also for supporting implementation of appropriate disease control measures. Although epidemiological links between different farm units usually exist due to pig production practices and shared management procedures, not all epidemiological units necessarily become infected. Our investigations demonstrated that even during prolonged HRPs, some pens or farm sections remained unaffected. These findings indicate that ASF spread within large commercial farms is not uniform and follows identifiable transmission patterns.

A detailed understanding of within-farm infection distribution enables prioritization and coordination of disease control measures, including targeted culling strategies focused initially on the most affected units. Furthermore, detailed epidemiological assessment of infection distribution may support adaptation of disease control measures to specific outbreak situations, particularly in scenarios where regulatory frameworks allow derogations from total depopulation (EC, 2019).

The housing system and animal management practices may also influence within-farm transmission dynamics. When pigs are housed in larger groups, virus spread is generally faster than in systems where animals are housed individually or in smaller groups. Therefore, assessment of epidemiological links, internal animal movements, housing structures, and management practices becomes important for understanding transmission pathways within affected farms.

Once epidemiological units and potential transmission pathways have been identified, these analytical findings must be verified through an appropriate diagnostic sampling strategy. Such a strategy should be aligned both with reconstructed transmission patterns and with the epidemiological characteristics of ASF infection.

Prior to development of the targeted approach described in Study III, legislation required collection of random blood samples during culling for serological and virological testing. The minimum sample size was intended to detect a seroprevalence of 10% within each epidemiological subunit with a confidence level of 95% (EC, 2003). However, considering that highly virulent ASF virus strains were circulating in Europe, such random surveillance approaches became less appropriate for assessing active virus circulation (EFSA, 2021). Since virulent ASF infections result in death in the majority of infected

pigs, surveillance strategies should primarily focus on virus detection in clinically sick and dead animals (Blome et al., 2020; Busch et al., 2021). Nevertheless, serological testing may still provide valuable epidemiological information regarding the duration of virus circulation within the farm.

Study III had two objectives: firstly, to develop a targeted and efficient sampling strategy for ASF-affected farms, and secondly, to evaluate the suitability of lateral flow devices (LFDs) under field conditions in comparison with standard laboratory methods, including PCR, ELISA, and IPT. Until then, LFDs had mainly been evaluated under experimental rather than field conditions in ASF-affected farms.

The underlying hypothesis was that ASF-infected animals would most likely be detected among clinically sick animals and that LFDs could support rapid identification of such animals under field conditions. Our results demonstrated that due to lower sensitivity compared with standard laboratory methods, LFDs cannot replace laboratory confirmation and are not suitable for demonstrating disease freedom. However, they proved useful as complementary field tools during outbreak investigations in already confirmed ASF outbreaks, particularly when examining clinically suspect and dead pigs.

The principal objective of Study III, however, was to establish a reliable sampling strategy capable of providing an overview of virus distribution within affected farms. We developed a practical approach for subdividing farms into epidemiological units and categorizing them according to the likelihood of ASF virus circulation. Targeted sampling focused on clinically sick and dead animals, as well as pigs in close contact with infected animals. Our findings demonstrated that purposive sampling of clinically affected and dead pigs is highly effective for identifying infected epidemiological units and assessing active virus circulation within affected farms.

The proposed approach therefore provides a structured epidemiological tool for assessment of ASF spread within commercial pig farms and supports more evidence-based outbreak management. However, although targeted sampling improves outbreak investigations after disease confirmation, prevention of prolonged undetected virus circulation requires equally effective early detection systems. Therefore, surveillance strategies aimed at shortening the HRP remain a critical component of ASF control.

5.3. Early detection of ASF outbreaks in pig farms

The studies demonstrated that enhanced passive surveillance substantially improved early detection of ASF outbreaks and shortened the high-risk period (HRP) in affected pig farms. Study II, which analyzed two outbreak farms, one in 2017 and one in 2018, clearly illustrated the importance of enhanced surveillance approaches. On one farm, enhanced passive surveillance was not yet

applied because the outbreak occurred before implementation of the system. As a result, ASF was detected with a delay. In contrast, on the second farm, the disease was detected considerably earlier due to the implementation of enhanced passive surveillance. Although mortality levels did not initially raise suspicion of ASF, the disease was detected because dead pigs were systematically tested for ASF.

Early detection is essential for minimizing the HRP and reducing opportunities for further virus transmission within and between farms. However, when Study I was conducted in 2017, there were no specific legal requirements for early ASF detection in pig farms. In addition, practical epidemiological knowledge regarding the behavior of ASF virus following its introduction into commercial pig farms was still limited. At that time, surveillance procedures for early ASF detection were mainly based on active surveillance and the ASF Diagnostic Manual in use during that period.

The findings from Study I contributed to a better understanding of ASF outbreak dynamics in large commercial pig farms, particularly by demonstrating that ASF virus circulation may remain undetected for a prolonged period due to low initial mortality. These observations highlighted the limitations of surveillance approaches primarily based on active clinical inspections and general mortality indicators. Following communication of these findings to the European Commission, enhanced passive surveillance approaches, particularly systematic testing of dead and clinically affected pigs, received greater emphasis in ASF surveillance strategies. Subsequently, surveillance approaches evolved both in Latvia and at the European Union level, with enhanced passive surveillance becoming an essential component of early ASF detection strategies (EC, 2014; EC, 2018). The present studies support the epidemiological value of this approach and demonstrate that systematic testing of dead pigs is a practical and epidemiologically justified method for improving early ASF detection and shortening the HRP.

5.4. Integrated epidemiological framework of ASF outbreak investigation and control

The findings of Studies I-IV demonstrate that effective ASF control at farm level requires an integrated epidemiological framework combining prevention, early detection, structured outbreak investigation, and evidence-based decision-making.

ASF remains a priority infectious disease in Latvia, where continuous circulation of the virus in wild boar populations maintains constant infection pressure on domestic pig farms. Temporal and spatial analyses have demonstrated variability in ASF prevalence among wild boar populations between years and regions (Oļševskis et al., 2020; BIOR, 2022). Wild boar

therefore function as a long-term reservoir, creating a persistent epidemiological interface between wildlife and domestic pig production systems.

Within this epidemiological context, the present studies demonstrate that ASF control at farm level cannot rely on a single intervention but requires integration of multiple complementary epidemiological components.

First, the investigations of virus introduction pathways demonstrated that the most critical determinant of virus introduction is not structural farm design alone but the interaction between infrastructure ("hardware") and human behavior ("software"). While physical barriers reduce direct contact with wild boar, human-mediated pathways, particularly those associated with food handling, staff movements, and procedural non-compliance, remain central to ASF introduction risk. This confirms that ASF epidemiology in domestic pigs is strongly influenced by anthropogenic factors, consistent with findings from other European studies (Zani et al., 2019; Ardelean et al., 2021). Furthermore, the structured hypothesis-based investigative approach applied in Study I provides a methodological framework that reduces subjectivity and increases transparency during outbreak investigations.

Second, reconstruction of the high-risk period (HRP) demonstrated the importance of reconstructive epidemiology in outbreak management. ASF outbreaks in large commercial pig farms may involve multiple infection cycles before disease detection, as supported by both field observations and experimental studies with genotype II ASF virus (Guinat et al., 2016; Pietschmann et al., 2015; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013). The timeline-based analytical approach developed in the present studies integrates clinical, laboratory, management, and biosecurity data into a coherent epidemiological framework. This transforms HRP estimation from a descriptive exercise into a practical analytical tool with direct relevance for tracing secondary outbreaks and assessing onward transmission risks.

Third, assessment of within-farm spread demonstrated that infection dynamics are shaped by internal contact structures, pig movement patterns, and housing systems. Although epidemiological links between farm units frequently exist, infection is not necessarily distributed uniformly throughout the farm. This finding has important implications for risk-based disease control strategies and prioritization of control measures. It further demonstrates that ASF spread within intensive pig production systems follows identifiable transmission patterns that can be reconstructed and epidemiologically analyzed.

Fourth, development of targeted sampling strategies aligned diagnostic approaches with the biological and epidemiological characteristics of highly virulent ASF strains. Given the high case fatality rate (>90%) associated with genotype II ASFV (Guinat et al., 2016; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013), purposive sampling of clinically sick and dead pigs is epidemiologically more appropriate than random serological and virological sampling for assessment of active virus circulation. The subdivision of farms into epidemiological units and categorization according to infection risk provides a structured decision-support

tool for outbreak investigations. Although lateral flow devices (LFDs) cannot replace laboratory confirmation, their strategic application under field conditions may improve operational efficiency.

Finally, the transition from active surveillance towards enhanced passive surveillance represents an important paradigm shift in ASF control (EC, 2014; EC, 2018). The findings generated in Studies I and II demonstrated that reliance solely on general mortality indicators is insufficient for early outbreak detection. Instead, systematic testing of dead pigs provides an epidemiologically justified and operationally feasible approach for improving early ASF detection and shortening the HRP.

Taken together, the studies presented in this thesis form an integrated epidemiological model for ASF outbreak investigation and control at farm level. The model consists of five interdependent components: structured assessment of virus introduction pathways, analytical reconstruction of the HRP, mapping of within-farm transmission patterns, risk-based targeted sampling strategies, and strengthened early detection through enhanced passive surveillance.

These components are closely interconnected. Accurate HRP reconstruction improves tracing activities, targeted sampling clarifies transmission patterns, and structured investigation of human-mediated introduction pathways strengthens preventive biosecurity measures. At the centre of this integrated framework lies the human factor - awareness, compliance, communication, and decision-making.

Therefore, effective ASF control requires not only regulatory enforcement and laboratory capacity but also sustained investment in behavioural biosecurity, structured epidemiological training, and systematic investigation methodologies. The methodological approaches developed in this thesis contribute to strengthening such capacity and provide a framework applicable beyond the Latvian context.

Overall, this work demonstrates that ASF outbreak management is not solely a matter of pathogen detection but a multidisciplinary epidemiological process integrating disease epidemiology, farm management systems, human behaviour, and regulatory structures into a coherent disease control strategy.

CONCLUSIONS

1) ASF in commercial pig farms may initially develop with slow and heterogeneous virus spread, allowing infection to remain undetected for extended periods. These findings demonstrate that early detection of outbreaks cannot rely solely on increased mortality or clinical suspicion and requires systematic surveillance approaches.

2) Reconstruction of the HRP represents a central element of epidemiological outbreak investigation, enabling identification of probable virus introduction events, assessment of transmission pathways, and improvement of tracing and outbreak management decisions.

3) Structured, hypothesis-based epidemiological investigations enable systematic assessment of possible ASF virus introduction pathways and support exclusion of unlikely transmission routes.

4) Assessment of within-farm transmission patterns demonstrated that ASF spread does not occur uniformly across production units. Identification of epidemiological units and application of targeted sampling strategies are essential for reliable assessment of infection distribution within affected farms. Evaluation of rapid pen-side diagnostic tests under field conditions further demonstrated their practical value as complementary tools alongside standard laboratory methods.

5) Enhanced passive surveillance based on systematic testing of dead pigs significantly improves early detection of ASF outbreaks and contributes to shortening the HRP, thereby reducing the probability of further disease spread.

6) Epidemiological investigations integrating structured data collection, professional interpretation of field information, and targeted diagnostic verification provide evidence for adapting disease control and management measures to the specific outbreak situation, including assessment of the possibility of applying derogations from total depopulation measures.

7) The findings of this study resulted in the development of a structured framework for ASF outbreak investigations that integrates early detection, high-risk period reconstruction, hypothesis-based epidemiological investigation, and targeted diagnostic approaches.

RECOMMENDATIONS

1) Enhanced passive surveillance based on systematic testing of dead pigs should be consistently applied and maintained in commercial pig farms, as it improves early detection of ASF outbreaks and contributes to reducing the duration of undetected infection.

2) A structured approach to reconstruction of the high-risk period (HRP), integrating epidemiological, clinical, laboratory, mortality, and movement data, should be applied during ASF outbreak investigations to support identification of virus introduction events, assessment of transmission pathways, and outbreak management decisions.

3) ASF outbreak investigations should follow an integrated, hypothesis-based epidemiological framework incorporating structured data collection, HRP reconstruction, identification of epidemiological units, targeted sampling strategies, and appropriate diagnostic methods to support evidence-based outbreak management and disease control.

ACKNOWLEDGEMENTS

Words cannot fully express my sincere gratitude to all those who inspired, supported, taught, and guided me throughout the journey of completing this doctoral thesis.

A very special collaboration with colleagues from the Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), the Federal Research Institute for Animal Health (Germany), the Estonian University of Life Sciences, and the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment "BIOR" developed not only into valuable scientific cooperation but also into lasting personal relationships and a shared passion for finding answers to the many epidemiological questions related to African swine fever. This collaboration enabled me to work with an exceptional team of supervisors and scientific advisors.

My supervisors, Prof. Dr. Aivars Bērziņš and Prof. Dr. Arvo Viltrop, together with my scientific consultant, Dr. Klaus Depner, have been a continuous source of support, advice, encouragement, and knowledge throughout my doctoral studies.

Throughout the study process, and particularly during the design of field investigations and periods of uncertainty, Klaus, your support, encouragement, and guidance were invaluable. Your scientific expertise, enthusiasm, and ability to see solutions where others saw obstacles have been a constant source of inspiration. I will always be deeply grateful for your support.

I sincerely thank the foundation "Vītolu fonds" for recognizing the potential of my doctoral research and supporting my studies through the LAB-AN scholarship.

I would also like to express my sincere appreciation for the recognition awarded by the Latvian Academy of Sciences, which acknowledged our research on African swine fever as one of the most significant achievements in applied science in 2025. Such recognition highlights the importance of applied research and serves as valuable encouragement for continued scientific work.

My deepest gratitude goes to all colleagues who co-authored the four publications included in this thesis. Coming from different countries and bringing diverse experiences with ASF, you made our joint work more comprehensive, insightful, and inspiring. The exchange of ideas, scientific discussions, and shared efforts to address the challenges of ASF control have been among the most rewarding aspects of this journey.

This thesis would never have been possible without the days, months, and years spent working alongside my colleagues at the Food and Veterinary Service since the beginning of ASF in Latvia. My special thanks go to Edvīns Oļševskis. You were the person who made me believe that pursuing doctoral studies was possible while balancing the responsibilities of daily work at the Food and Veterinary Service. I am also deeply grateful for involving me in numerous

national and international research activities, which motivated and encouraged me to continue my scientific development.

I would also like to thank Mārtiņš Seržants for the countless discussions, questions, and hours spent working side by side during ASF outbreak investigations, data collection, and interpretation. Your ideas, practical solutions, critical thinking, and sense of humor have always been a source of support and inspiration.

All colleagues of the Veterinary Surveillance Department deserve my sincere gratitude for their support, cooperation, and encouragement throughout these years.

I am sincerely grateful to all official veterinarians and laboratory specialists who were involved in ASF outbreak investigations and field activities throughout the years. The collection of samples, diagnostic testing, data gathering, and countless hours spent in affected farms provided the foundation for this research. Without your commitment and professionalism, these studies would not have been possible.

I would like to express my sincere gratitude to Inga Bedrīte for her assistance with the technical formatting of this thesis and for her consistently supportive attitude throughout the process.

My gratitude also belongs to my parents, who always supported my decision to pursue further studies and provided invaluable practical assistance by taking care of my home and garden while I was occupied with research activities and business trips.

My husband Ivo and our sons, Pēteris and Kristaps - I cannot imagine a more supportive, loving, and wonderful family. Your patience, understanding, encouragement, and unconditional love have made this journey possible.

Finally, I thank God for His overwhelming love, wisdom, guidance, and blessings that have accompanied me throughout my life and this academic journey.

Thank you all.

ANOTĀCIJA

Āfrikas cūku mēris (ĀCM) ir viena no nozīmīgākajām cūku infekcijas slimībām, kas rada smagas sociālekonomiskās sekas, raksturojas ar neprognozējamu pārrobežu izplatību un kuras profilaksei joprojām nav pieejami efektīvi ārstniecības līdzekļi vai vakcīnas. Mainīgā ĀCM epidemioloģiskā situācija rada pastāvīgu risku cūkkopības nozarei gan Eiropas Savienībā (ES), gan trešajās valstīs. Kopš ĀCM pirmo reizi tika konstatēts ES 2014. gadā, tā izplatība ir radījusi būtiskus izaicinājumus valsts institūcijām, nozares ekspertiem un citām iesaistītajām pusēm.

ĀCM Latvijā tika konstatēts 2014. gadā, slimībai izplatoties mežacūku populācijā, tādējādi radot apdraudējumu mājas cūku novietnēm. Kopš tā laika ĀCM uzliesmojumi ir reģistrēti dažāda tipa cūku novietnēs visā Latvijā. Lai gan pirmie uzliesmojumi galvenokārt tika konstatēti piemājas saimniecībās, pirmais uzliesmojums lielā komerciālā cūku novietnē tika apstiprināts 2017. gada janvārī, kas kalpoja par pamatu padziļinātu epidemioloģisko izmeklēšanu uzsākšanai. Turpmākie uzliesmojumi vairākās komerciālās cūku novietnēs radīja iespēju veikt plašākas epidemioloģiskās izmeklēšanas reālos lauka apstākļos. Šajā promocijas darbā apkopoti trīs epidemioloģisko pētījumu rezultāti, kas veikti četrās lielās komerciālās cūku novietnēs Latvijā, kā arī ceturtā pētījuma rezultāti, kurā analizēti fermu darbinieku, cūku audzētāju un citu nespeciālistu viedokļi par iespējamiem vīrusa iekļūšanas ceļiem saimniecībās dažādās ĀCM skartajās valstīs Eiropā.

Pētījumu mērķis bija identificēt iespējamos vīrusa iekļūšanas avotus saimniecībās, noteikt ticamāko vīrusa iekļūšanas laiku un izpētīt slimības izplatības ceļus novietņu ietvaros. Kopumā šo pētījumu rezultāti ļāva izstrādāt strukturētu epidemioloģisko pieeju ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanai saimniecību līmenī. Skartajās cūku novietnēs tika izvērtētas biodrošības sistēmas, izstrādājot hipotēzēs balstītu pieeju iespējamo vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšanai. Visās pētījumā iekļautajās novietnēs tika analizētas slimības atklāšanas sistēmas, lai novērtētu, vai ĀCM tika konstatēts savlaicīgi, un izstrādātu ieteikumus uzraudzības pilnveidošanai agrīnākai slimības atklāšanai. Apkopojot un analizējot informāciju par saimniekošanas praksi, kā arī saslimstības un mirstības datus, tika noteikts ĀCM augsta riska periods (HRP) – laika posms no vīrusa iekļūšanas novietnē līdz slimības atklāšanai. HRP rekonstrukcija kalpoja kā nozīmīgs analītisks instruments, kas ļāva sasaistīt vīrusa iekļūšanu, slimības atklāšanu un lēmumus par uzliesmojuma kontroli. Lai novērtētu infekcijas izplatību skartajās cūku novietnēs, vienā no pētījumiem tika izstrādāta un praktiski pielietota mērķtiecīga paraugu ņemšanas stratēģija. Lai labāk izprastu vīrusa izplatības mehānismus novietņu ietvaros, tika analizēti vairāki epidemioloģiskie rādītāji, tostarp mirstības dati, kā arī dzīvnieku, personāla un transportlīdzekļu pārvietošanās. Atsevišķā pētījumā tika analizēti nespeciālistu viedokļi par iespējamiem slimības iekļūšanas ceļiem saimniecībās,

īpašu uzmanību pievēršot šādas informācijas epidemioloģiskajai nozīmei un interpretācijai.

Pētījumu rezultāti parādīja, ka ĀCM vīrusa izplatība lielās komerciālās cūku novietnēs sākotnēji norit lēni. Pastiprinātā pasīvā uzraudzība tika identificēta kā būtisks instruments agrīnai slimības atklāšanai, un tās efektivitāte tika apstiprināta, sistemātiski to ieviešot praksē. Tika izstrādāti ieteikumi pastiprinātās pasīvās uzraudzības īstenošanai cūku novietnēs, lai samazinātu HRP ilgumu. Hipotēzēs balstītā pieeja apliecināja savu lietderību strukturētu epidemioloģisko izmeklēšanu veikšanā, nosakot iespējamos vīrusa iekļūšanas ceļus. Piedāvātā paraugu ņemšanas stratēģija, apvienojot laboratoriskos izmeklējumus ar ātrajiem novietnē izmantojamiem diagnostiskajiem testiem, nodrošināja uzticamu ĀCM izplatības novērtēšanu skarto novietņu dažādās epidemioloģiskajās vienībās. Savukārt nespeciālistu viedokļu analīze par iespējamiem slimības iekļūšanas ceļiem apliecināja šādas informācijas subjektīvo raksturu un uzsvēra pieredzējušu epidemioloģisko izmeklētāju nozīmi tās korektā interpretācijā. Kopumā promocijas darbs sniedz ieguldījumu strukturēta ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanas un agrīnas slimības atklāšanas ietvara izstrādē, tādējādi veicinot efektīvāku ĀCM kontroli mājas cūku novietnēs.

SAĪSINĀJUMI

b-LFD Antivielu laterālās plūsmas tests

ADIS Dzīvnieku slimību informācijas sistēma

Ag-LFD Antigēnu laterālās plūsmas tests

ĀCM Āfrikas cūku mēris

ĀCMV Āfrikas cūku mēra vīruss

KCM Klasiskais cūku mēris

Ct Kvantifikācijas cikls

DNS Dezoksiribonukleīnskābe

EFSA Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde

ELISA Enzīmsaistītās imūnsorbcijas metode

ES Eiropas Savienība

EURL Eiropas Savienības references laboratorija

MNS (FMD) Mutes un nagu sērga

PVD Pārtikas un veterinārais dienests

HRP Augsta riska periods

IPT Netiešā imūnperoksidāzes metode

LFD Laterālās plūsmas tests

NRL Nacionālā references laboratorija

PĶR Polimerāzes ķēdes reakcija

Kvantitatīvā PĶR (qPCR) Kvantitatīvā polimerāzes ķēdes reakcija

Reāllaika PĶR (rtPCR) Reāllaika polimerāzes ķēdes reakcija

WAHIS Pasaules dzīvnieku veselības informācijas sistēma

WOAH Pasaules Dzīvnieku veselības organizācija

PUBLIKĀCIJAS

Promocijas darba pamatā ir četras oriģinālpublikācijas (I - IV pētījums). Turpmāk tekstā atsaucei uz konkrēto publikāciju izmantoti romiešu cipari.

1. Lamberga, K.; Seržants, M.; Oļševskis, E. African swine fever outbreak investigations in a large commercial pig farm in Latvia: A case report. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 2019, 132, 151–155.
2. Lamberga, K., Oļševskis, E., Seržants, M., Bērziņš, A., Viltrop, A., & Depner, K. (2020). African swine fever in two large commercial pig farms in Latvia – Estimation of the high-risk period and virus spread within the farm. Veterinary Sciences, 7(3), 105. https://doi.org/10.3390/vetsci7030105
3. Lamberga, K., Depner, K., Zani, L., Oļševskis, E., Seržants, M., Ansonska, S., Šteingolde, Ž., Bērziņš, A., Viltrop, A., Blome, S., & Globig, A. (2022). A practical guide for strategic and efficient sampling in African swine fever-affected pig farms. Transboundary and Emerging Diseases, 1–10. https://doi.org/10.1111/tbed.14582
4. Lamberga, K.; Ardelean, F.; Blome, S.; Busauskas, P.; Djuric, B.; Globig, A.; Guberti, V.; Miteva, A.; Oļševskis, E.; Seržants, M.; et al. African Swine Fever Outbreak Investigations – The Significance of Disease-Related Anecdotal Information Coming from Laypersons. Pathogens 2022, 11, 702. https://doi.org/10.3390/pathogens11060702

Autora ieguldījums

Publikācija/Pētījums	Ieguldījums	%
I	Izstrādāja pētījuma koncepciju, veica pētījumu un sagatavoja manuskripta projektu	70
II	Veica epidemioloģisko izmeklēšanu un datu analīzi, izstrādāja manuskripta sākotnējo redakciju	75
III	Izstrādāja pētījuma koncepciju un metodoloģiju, veica izmeklējumus saimniecībās, veica formālo datu analīzi, apkopoja datus un sagatavoja grafikus, sagatavoja manuskripta pirmo versiju	75
IV	Izstrādāja pētījuma koncepciju un metodoloģiju, sagatavoja manuskripta pirmo versiju un izstrādāja vizualizācijas	65

1. IEVADS

1.1. Āfrikas cūku mēris: slimības raksturojums un epidemioloģija

Āfrikas cūku mēris (ĀCM) ir viena no nozīmīgākajām cūku infekcijas slimībām, kas rada smagas sociālekonomiskās sekas, raksturojas ar neprognozējamu pārrobežu izplatību un kuras kontrolei joprojām nav pieejami efektīvi ārstēšanas vai vakcinācijas līdzekļi. ĀCM ir obligāti ziņojama dzīvnieku infekcijas slimība.

ĀCM pirmo reizi aprakstīja Kenijā 1921. gadā (Montgomery, 1921). Pirmoreiz Eiropā slimība tika konstatēta Portugālē 1957. gadā, kur sākotnēji to izdevās izskaust. Tomēr 1960. gadā ĀCM Portugālē tika ieviests atkārtoti, un no turienes izplatījās uz Spāniju, kļūstot endēmisks Ibērijas pussalā 20. gadsimta 70. un 80. gados un radot ievērojamus ekonomiskos zaudējumus. Šajā periodā uzliesmojumi sporādiski tika konstatēti arī citās Eiropas un Amerikas valstīs, tostarp Nīderlandē, Beļģijā, Francijā, Ziemeļitālijā, Kubā, Brazīlijā, Dominikānas Republikā un Haiti, tomēr šajās valstīs slimību izdevās izskaust. 1978. gadā ĀCM tika konstatēts Sardīnijā, kur tas saglabājās endēmisks vairāk nekā četras desmitgades (Mur et al., 2014), līdz Sardīnijas kompetentās iestādes nesen sekmīgi panāca slimības izskaušanu (Cappai et al., 2022).

Primāro uzliesmojumu infekcijas avots visbiežāk bija piesārņoti pārtikas atkritumi no starptautiskajā satiksmē iesaistītiem gaisa kuģiem un kuģiem (Mur et al., 2012). Tādēļ epidemioloģiskajā skatījumā secināts, ka cilvēka darbība un biodrošības prasību neievērošana ir galvenie faktori, kas veicina gan starpkontinentālu, gan reģionālu ĀCM izplatību.

2007.gadā gadā ĀCM nonāca Gruzijā caur Poti ostu Melnās jūras piekrastē, visticamāk, arī ar piesārņotu pārtikas atkritumu starpniecību, un strauji izplatījās Gruzijā, Armēnijā un Krievijas Federācijā. Līdz 2012. gada beigām slimība bija izplatījusies vairākos Krievijas Federācijas Eiropas daļas reģionos (Gogin et al., 2013; Organesyan et al., 2013). Turpmākajos gados par uzliesmojumiem tika ziņots Ukrainā un Baltkrievijā. 2014. gada janvārī ĀCM sasniedza Eiropas Savienības austrumu robežu, kad Lietuvā tika konstatēta pirmā ar ĀCM inficētā mežacūka. Mēnesi vēlāk pirmie gadījumi tika reģistrēti Polijā, jūnijā Latvijā, bet 2014. gada septembrī – Igaunijā (EFSA, 2014; Pejsak and Stadejek, 2015). Ņemot vērā pirmo uzliesmojumu ģeogrāfisko tuvumu Baltkrievijas robežai, tiek pieņemts, ka ĀCM Baltijas valstīs un Polijā nonāca no Baltkrievijas, lai gan šajā periodā par ĀCM gadījumiem Baltkrievijā oficiāli netika ziņots.

Jau pirms pašreizējās ĀCM izplatības Eiropā un Āzijā, laikā, kad slimība bija sastopama Āfrikā un Ibērijas pussalā, uzliesmojumi tika reģistrēti arī četrās Amerikas valstīs. Papildus Kubai, kur slimība tika konstatēta divas reizes – 1971. un 1980. gadā, ĀCM tika reģistrēts Dominikānas Republikā (1978 - 1981), Haiti (1978 - 1983) un Brazīlijā (1978 - 1981). Pēc vairāk nekā 40 gadu pārtraukuma 2021. gada vasarā ĀCM atkārtoti tika konstatēts Dominikānas Republikā.

Nav šaubu, ka ĀCM vīruss Amerikas kontinentā nonāca ar kuģu vai gaisa transporta starpniecību. Citiem vārdiem sakot, tieši cilvēka darbība nodrošināja vīrusa pārnešanu starp kontinentiem. Šāda patogēna pārnese ar kuģiem un lidmašīnām nav izņēmums, bet gan raksturīga ĀCM epidemioloģijas iezīme (EFSA, 2021; Sánchez-Vizcaíno et al., 2013). Dominikānas Republikā 2021. gadā konstatēto vīrusa izolātu sekvenēšanas rezultāti apliecināja, ka tas pieder tam pašam vīrusa genotipam, kas cirkulē Eiropā un Āzijā.

Lai gan kopš 20. gadsimta 70. un 80. gadu uzliesmojumiem Eiropā un Amerikā ir pagājis ilgs laiks un zināšanas par ĀCM ir būtiski paplašinājušās, ir svarīgi atcerēties, ka vīruss vairākkārt spējis pārvarēt okeānus un nonākt Eiropā, Āzijā un Amerikā cilvēka darbības rezultātā. Arī atkārtotā slimības konstatēšana Dominikānas Republikā 2021. gadā kalpo kā vēl viens apliecinājums šim faktam.

Vēsturiski ir aprakstīti trīs galvenie ĀCM epidemioloģiskie cikli: (i) silvātiskais cikls Āfrikā, kurā vīruss cirkulē starp mīkstajām ērcēm *(Ornithodoros spp.)* un Āfrikas savvaļas cūku sugām, galvenokārt kārpcūkām, neizraisot saslimšanu ne mugurkaulnieku, ne posmkāju saimniekorganismos; (ii) ērču - cūku cikls, kurā *Ornithodoros spp*. ērces darbojas kā vektori un nodrošina vīrusa pārnesi starp mājas cūkām; un (iii) mājas cūku cikls, kurā vīruss izplatās tiešā kontaktā starp cūkām vai netieši ar kontaminētu materiālu starpniecību bez kompetentu posmkāju vektoru iesaistes. Lielākā daļa ĀCM uzliesmojumu pasaulē ir saistīti tieši ar mājas cūku ciklu.

Tomēr pēc slimības ievazāšanas Baltijas valstīs un Polijā 2014. gadā kļuva acīmredzama mežacūku nozīme slimības epidemioloģijā, ļaujot izdalīt ceturto epidemioloģisko ciklu – mežacūku un apkārtējās vides ciklu (1.1. attēls) (Chenais et al., 2018). Šīs epidemioloģiskās īpatnības nosaka ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanas sarežģītību un nepieciešamību pēc daudzpusīgas epidemioloģiskās pieejas.

1.1 attēls. **ĀCM epidemioloģiskie cikli. 1 - silvātiskais cikls, 2 – ērču - cūku cikls, 3 - mājas cūku cikls, 4 – mežacūku - vides cikls** (Chenais et al., 2018)

Jāatzīmē, ka epidemioloģiskā situācija Eiropā pēc 2014. gada būtiski atšķiras no situācijas, kas tika novērota genotipa I dominances laikā Ibērijas pussalā. Pašlaik cirkulējošajiem II genotipa vīrusiem raksturīga ļoti augsta letalitāte, tādēļ slimības kontroles pieejas un uzraudzības koncepcijas, kas tika izstrādātas agrāko Eiropas uzliesmojumu laikā, ne vienmēr bija tieši piemērojamas epidemioloģiskajiem apstākļiem, kas 2014. gadā tika novēroti Baltijas valstīs un Polijā. Īpaši jāuzsver, ka seroloģiskā uzraudzība kā agrīnas slimības atklāšanas instruments izrādījās ierobežoti efektīva apstākļos, kad inficētie dzīvnieki bieži gāja bojā vēl pirms nosakāmu antivielu veidošanās.

No dzīvnieku infekcijas slimību kontroles un epidemioloģijas viedokļa īpaši nozīmīga ir ĀCM vīrusa augstā noturība apkārtējā vidē. Trūdēšanas procesi un saules gaisma vīrusu inaktivē nepietiekami, un tas saglabā inficēt spēju vairākas nedēļas pat sadalīšanās procesā esošos audos. Līķos un asinīs vīruss spēj saglabāties vairākus mēnešus, bet sasaldētā gaļā - pat vairākus gadus (Farez and Morley, 1997; EFSA, 2010). Tādēļ inficētu dzīvnieku līķi, kā arī kontaminēta gaļa un gaļas produkti var kalpot par nozīmīgiem infekcijas avotiem.

ĀCM vīrusa termiskā inaktivācija gaļā un gaļas produktos tiek panākta, tos karsējot 56 °C temperatūrā 70 minūtes vai 60 °C temperatūrā 20 minūtes. Gaļas produktu pārstrādes laikā vīruss tiek inaktivēts tikai tad, ja produkta iekšējā temperatūra sasniedz vismaz 69 °C. Vīruss ir stabils plašā pH diapazonā no 3,0 līdz 13,4. Daudzi tradicionāli lietotie dezinfekcijas līdzekļi nav efektīvi pret ĀCM vīrusu, savukārt skābju saturoši līdzekļi nodrošina efektīvu inaktivāciju. Īpaši efektīva ir skudrskābe un citronskābe, turklāt citronskābe ir efektīva arī uz

koka virsmām (Krug et al., 2012). Efektīvi dezinfekcijas līdzekļi ir arī nātrija hidroksīds (0,8 % NaOH, 30 min), hipohlorīts (2,3 %, 30 min), formalīns (0,3 %, 30 min), ortofenilfenols (3 %, 30 min) un jodu saturoši dezinfekcijas līdzekļi.

Runājot par saimniekorganismiem un vektoriem, uzņēmīgas pret ĀCM infekciju ir gan mājas cūkas, gan mežacūkas, savukārt citas mājdzīvnieku sugas un cilvēki pret šo infekciju nav uzņēmīgi. Āfrikas kārpcūka tiek uzskatīta par dabisko ĀCM vīrusa rezervuāru, un tai parasti neattīstās slimības klīniskās pazīmes.

Dažos Āfrikas reģionos, kā arī Ibērijas pussalā, *Ornithodoros* ģints mīkstās ērces ir kompetenti ĀCM vīrusa vektori un tām ir būtiska nozīme slimības izplatībā (Oleaga-Perez et al., 1990). Sugai *Ornithodoros moubata*, kas sastopama Subsahāras Āfrikā, raksturīga gan transovariāla, gan transstadiāla vīrusa pārnešana, un tā tiek uzskatīta par pilnībā kompetentu vektoru. Savukārt sugai *Ornithodoros erraticus*, kas sastopama Ibērijas pussalā un Ziemeļāfrikā, transovariāla pārnešana nenotiek, tomēr vīruss ērcē var saglabāties līdz pat pieciem gadiem un tiek pārnests transstadiāli.

Tomēr mīksto ērču klātbūtne nav obligāts priekšnoteikums infekcijas pārnesei vai epidemioloģiskā cikla uzturēšanai. Sardīnijā, kā arī Centrālajā un Austrumeiropā līdz šim nav iegūti pierādījumi par ērču iesaisti ĀCM izplatībā (EFSA, 2024). Vācijā mežacūku asins serumos tika noteiktas antivielas pret mīksto ērču antigēniem, taču netika konstatētas pazīmes, kas liecinātu par kontaktu ar šīm ērcēm (Pietschmann et al., 2016). Tādēļ nav pamata uzskatīt, ka mīkstās ērces būtu iesaistītas ĀCM epidemioloģiskajā ciklā Eiropā. Arī laboratoriskie pētījumi par citu vietējo ērču sugu, piemēram, *Ixodes ricinus*, vektorkompetenci neuzrādīja vīrusa replikāciju (de Carvalho Ferreira et al., 2014).

Izmeklējot ĀCM uzliesmojumus mājas cūku novietnēs, asinssūcēji kukaiņi bieži tiek minēti kā iespējami mehāniskie vektori gadījumos, kad nav iespējams skaidri noteikt infekcijas iekļūšanas ceļu. Tomēr eksperimentālo un lauka pētījumu skaits, kas apstiprinātu šādu kukaiņu epidemioloģiski nozīmīgu lomu ĀCM izplatībā, ir ļoti ierobežots. Mehāniska vīrusa pārnešana un ilgstoša replikācijspējīga vīrusa saglabāšanās ir pierādīta sugai *Stomoxys calcitrans* (Mellor et al., 1987). Nesenā lauka pētījumā, kurā tika vērtēta mušu un knišļu iespējamā loma ĀCM vīrusa mehāniskā pārnesē, secināts, ka tādu nejaušu mehānisko vektoru kā *Culicoides* spp. un *S. calcitrans* iesaiste vīrusa pārnesē ir iespējama, tomēr nepieciešami turpmāki pētījumi (Dhollander et al., 2025). Pieejamie zinātniskie dati liecina, ka mušas un dunduri ĀCM skartajās teritorijās Eiropas Savienībā var nonākt kontaktā ar vīrusu un potenciāli pārnest to cūkām (EFSA, 2024). Tādēļ asinssūcēju kukaiņu nozīme ĀCM epidemioloģijā lauka apstākļos joprojām nav pilnībā noskaidrota. Tāpat nav pietiekamu pierādījumu, kas ļautu saistīt ĀCM uzliesmojumu sezonālo raksturu ar asinssūcēju kukaiņu aktivitāti.

Mājas cūkām un mežacūkām ĀCM parasti izpaužas kā akūta, ļoti letāla hemorāģiska slimība, kurai raksturīga strauja klīnisko pazīmju attīstība un augsta

letalitāte. Slimības norise mājas cūkām un mežacūkām ir līdzīga. Infekcijai vienlīdz uzņēmīgi ir abu dzimumu un visu vecuma grupu dzīvnieki. Uzņēmīgie dzīvnieki inficējas, nonākot tiešā kontaktā ar infekciozu materiālu vai slimiem dzīvniekiem, visbiežāk perorālā ceļā, uzņemot kontaminētu barību, gaļu vai citus produktus. Teritorijās, kur *Ornithodoros* ģints ērces darbojas kā vektori, infekcija var tikt pārnesta arī ar ērču kodumiem.

No epidemioloģiskā viedokļa īpaši nozīmīgas ir viremiska dzīvnieka asinis, jo infekcijas ierosināšanai var pietikt pat ar vienu asins pilienu. Tas saistīts ar faktu, ka ĀCM vīruss evolūcijas gaitā ir pielāgojies pārnesei ar posmkāju vektoru starpniecību, tādēļ efektīvi izplatās arī ar ļoti nelielu asiņu daudzumu.

Pēc salīdzinoši īsa inkubācijas perioda, kas ilgst dažas dienas, dzīvniekiem attīstās augsta ķermeņa temperatūra (līdz 42 °C), novērojama nomāktība un ēstgribas zudums. Grūsnām sivēnmātēm augstā drudža dēļ var notikt aborts. Slimības vēlīnākajās stadijās bieži novēro asinsizplūdumus ādā un iekšējos orgānos (OIE, 2019). Nāve parasti iestājas divu nedēļu laikā. Atsevišķos gadījumos dzīvnieki iet bojā, neizrādot izteiktas klīniskās pazīmes. Pamatojoties vienīgi uz klīnisko ainu, ĀCM nav iespējams atšķirt no smagām klasiskā cūku mēra (KCM) formām vai citām smagām sistēmiskām cūku slimībām. Drošu diagnozi iespējams noteikt tikai ar laboratoriskajiem izmeklējumiem. Šīs nespecifiskās agrīnās klīniskās pazīmes ir viens no iemesliem novēlotai ĀCM uzliesmojumu atklāšanai lauka apstākļos.

Viena no ĀCM īpatnībām ir tā, ka inficētie dzīvnieki, ja tie pirmajās divās nedēļās neiet bojā infekcijas dēļ, izstrādā antivielas pret ĀCM vīrusu. Tomēr šīm antivielām nav neitralizējošas iedarbības, un tās nenodrošina efektīvu aizsardzību pret infekciju. Aizsargājošu antivielu trūkums ir viens no galvenajiem iemesliem, kādēļ joprojām nav pieejamas efektīvas vakcīnas pret ĀCM, jo arī vakcinācijas rezultātā inducētās antivielas nenodrošina pietiekamu aizsardzību. Vienlaikus antivielu noteikšanai ir būtiska epidemioloģiska nozīme. Antivielu klātbūtne norāda, ka infekcija dzīvniekā bijusi vismaz divas nedēļas. Savukārt, ja antivielas netiek konstatētas, bet tiek noteikts tikai vīrusa antigēns vai vīrusa genoms ar polimerāzes ķēdes reakcijas (PĶR) metodi, tas liecina par salīdzinoši nesenu infekcijas iekļūšanu (mazāk nekā 12 dienas).

ĀCM nereti tiek raksturots kā ļoti lipīga slimība, līdzīgi kā klasiskais cūku mēris vai mutes un nagu sērga (MNS), kuru ierosinātāji lielā daudzumā izdalās ar dažādiem organisma sekrētiem un ekskrētiem. Tomēr šāds raksturojums pilnībā neatbilst ĀCM epidemioloģijai. ĀCM var uzskatīt par ļoti lipīgu slimību tikai tajos gadījumos, kad galvenais transmisijas ceļš ir kontakts ar asinīm.

Kopumā uzliesmojumu epidemioloģiskā analīze liecina, ka ĀCM raksturīga augsta letalitāte, zema mirstība uzliesmojuma sākumposmā un salīdzinoši zems lipīgums. Letalitāte ir to dzīvnieku īpatsvars, kuri noteiktā laika periodā gājuši bojā no kopējā inficēto dzīvnieku skaita. ĀCM vīrusa II genotipa gadījumā letalitāte ir ļoti augsta – vairāk nekā 90 % inficēto dzīvnieku iet bojā divu nedēļu laikā (Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2012; Blome et al., 2013). Praktiski tas nozīmē, ka gandrīz katrs inficētais dzīvnieks iet bojā infekcijas rezultātā. Augstu

letalitāti apstiprina arī eksperimentālie pētījumi (Pietschmann et al., 2015; Gallardo et al., 2015).

Tomēr ĀCM uzliesmojuma sākumposmā novietnes līmenī – aptuveni divas līdz trīs nedēļas pēc vīrusa iekļūšanas – kopējā mirstība var būt zema, neskatoties uz augsto letalitāti, jo skarts ir tikai ierobežots dzīvnieku skaits attiecīgajā epidemioloģiskajā vienībā. Mirstība ir to dzīvnieku īpatsvars, kuri noteiktā laika periodā gājuši bojā attiecībā pret visu populāciju.

Minētie epidemioloģiskie rādītāji uzsver lauka pētījumu nozīmi, lai labāk izprastu slimības izplatības dinamiku skartajos ganāmpulkos un infekcijas attīstību laika gaitā novietnes līmenī. Šīs epidemioloģiskās īpatnības nosaka ne tikai infekcijas klīnisko iznākumu, bet arī ietekmē uzliesmojumu kontroles un uzraudzības stratēģiju izstrādi un īstenošanu skartajos reģionos.

Šie epidemioloģiskie raksturlielumi ir cieši saistīti ar ĀCM vīrusa bioloģiskajām īpašībām. ĀCM izraisa apvalkots divpavedienu DNS vīruss, kas pieder *Asfarviridae* dzimtai. Vīrusam ir sarežģīta daudzslāņaina struktūra un genoms, kas kodē vairāk nekā 150 gēnus, no kuriem ievērojamas daļas funkcijas joprojām nav pilnībā noskaidrotas. Vīruss galvenokārt replicējas inficēto šūnu citoplazmā, īpaši perinukleārajās vīrusu replikācijas struktūrās, un kodē daudzus proteīnus, kas nepieciešami tā transkripcijai un replikācijai.

ĀCM vīrusam raksturīgs izteikts tropisms pret monocītu - makrofāgu līnijas šūnām, kurām ir centrāla nozīme slimības patoģenēzē. Infekcija izraisa būtiskus imūnās atbildes traucējumus, kas veicina smagu klīnisko pazīmju attīstību un augstu mirstību. Lai gan noteiktas imūnās reakcijas, piemēram, agrīna interferonu producēšana un T limfocītu aktivācija, tiek saistītas ar aizsardzību pret infekciju, aizsargājošās imunitātes mehānismi joprojām nav pilnībā izprasti.

Vīrusam raksturīga liela noturība apkārtējā vidē, kas ļauj tam ilgstoši saglabāties kontaminētā gaļā, asinīs, līķos un citos infekciju pārnesošos objektos. Šī noturība kopā ar daudzveidīgajiem transmisijas ceļiem - tiešu kontaktu, kontaminētu barību vai aprīkojumu, kā arī atsevišķos reģionos - vektoru izraisītu pārnesi, būtiski apgrūtina slimības kontroli un veicina tās turpmāku izplatību pasaulē (Mehinagic and Summerfield, 2026).

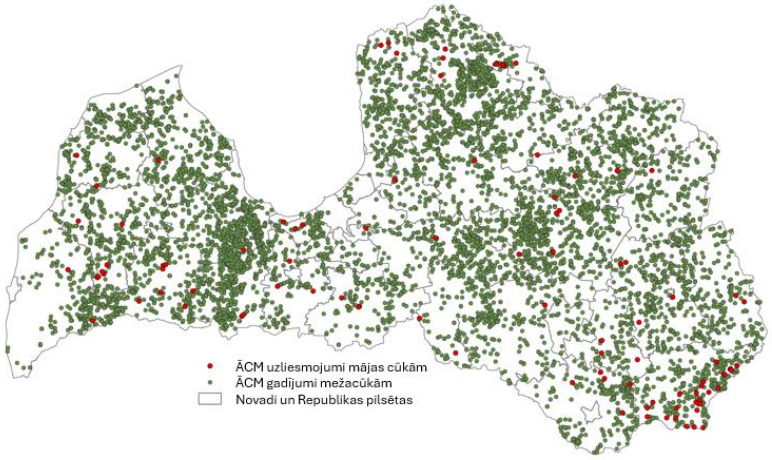
Līdz šim ir aprakstīti 22 ĀCM vīrusa genotipi (Bastos et al., 2003). Jāuzsver, ka genotips pats par sevi nesniedz pietiekamu informāciju par vīrusa virulenci. Sardīnijā, Ibērijas pussalā un Dienvidamerikā cirkulējušie ĀCM vīrusa celmi pieder I genotipam. Savukārt vīrusa celmi, kas pašlaik cirkulē Austrumeiropā (Baltijas valstīs, Polijā, Kaukāza reģionā, Krievijas Federācijā un Ukrainā), pieder II genotipam un tādēļ nav tieši saistīti ar Sardīnijā vai Ibērijas pussalā sastopamajiem izolātiem (Gallardo et al., 2009; Gallardo et al., 2014).

Pašlaik cirkulējošie II genotipa vīrusi rutīnas sekvenēšanā izmantotajos genoma reģionos ir ģenētiski identiski, un arī pilna genoma līmenī starp tiem konstatējamas tikai minimālas atšķirības. Tomēr, meklējot iespējas detalizētākai celmu diferenciācijai, pēdējos gados ir aprakstīti genoma reģioni ar atkārtotu nukleotīdu secību variācijām, kas potenciāli var tikt izmantoti molekulāri

epidemioloģiskos pētījumos (Gallardo et al., 2014; Goller et al., 2015; Forth et al., 2022).

Latvijā kopš 2014. gada novērotā epidemioloģiskā situācija ir praktisks piemērs iepriekš aprakstītajai infekcijas izplatības dinamikai un pastāvīgajam infekcijas apdraudējumam skartajos reģionos. Kopš ĀCM ievazāšanas Latvijā 2014. gadā slimība ir saglabājusies plaši izplatīta, turpinot cirkulēt mežacūku populācijā un periodiski izraisot uzliesmojumus mājas cūku novietnēs (1.2. attēls).

Pašlaik ĀCM gadījumi mežacūkām ir konstatēti gandrīz visā Latvijas teritorijā. Laikposmā no 2014. līdz 2025. gadam reģistrēti 11211 ĀCM gadījumi mežacūkām un 102 uzliesmojumi mājas cūku novietnēs, kuru apkarošanas pasākumu ietvaros tika iznīcinātas 81590 mājas cūkas (PVD dati). Šie rādītāji raksturo infekcijas apdraudējumu, ko rada mežacūkas, un pastāvīgo risku vīrusa iekļūšanai mājas cūku novietnēs.

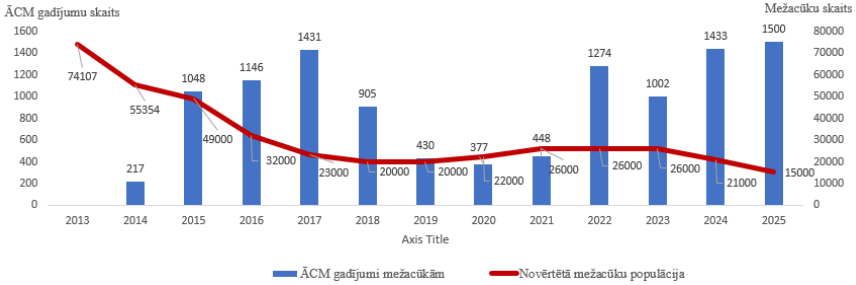


1.2 attēls. **Āfrikas cūku mēra gadījumu izplatība mežacūku populācijā un uzliesmojumi mājas cūku novietnēs Latvijā 2014. - 2025. gadā** (PVD ĀCM uzraudzības dati; vizualizācija sagatavota, izmantojot ESRI ArcGIS Pro 3.1.0 programmatūru)

Pārtikas un veterinārā dienesta īstenotās ĀCM uzraudzības un apkarošanas programmas ietvaros ĀCM izmeklējumi tika veikti gan atrastām beigtām, gan nomedītām mežacūkām. Veiktā PĶR izmeklējumu rezultātu analīze, kā arī citu pētījumu rezultāti liecina, ka ĀCM vīrusa izplatība mežacūku populācijā būtiski atšķiras gan starp gadiem, gan dažādiem Latvijas reģioniem (Oļševskis et al., 2020; BIOR, 2022).

Lai gan ĀCM izplatības rezultātā mežacūku populācija strauji samazinājās no aptuveni 74000 dzīvnieku 2013. gadā līdz aptuveni 15000 dzīvnieku 2015.

gadā, mežacūkas joprojām saglabājas kā nozīmīgs ĀCM vīrusa rezervuārs Latvijā, tādējādi radot pastāvīgu un ilgstošu apdraudējumu mājas cūku sektoram - gan komerciālajām cūku novietnēm, gan piemājas saimniecībām (1.3. attēls).



1.3 attēls. **ĀCM gadījumi mežacūkām un novērtētais mežacūku populācijas lielums pa gadiem (2013 - 2025)** (Avots: Pārtikas un veterinārais dienests un Valsts meža dienests)

Šādos epidemioloģiskajos apstākļos, kam raksturīga nepārtraukta vīrusa cirkulācija mežacūku populācijā un periodiska vīrusa iekļūšana mājas cūku novietnēs, īpaši būtiska nozīme ir efektīvām uzraudzības sistēmām, kā arī skaidri definētiem uzliesmojumu izmeklēšanas un kontroles pasākumiem, lai ierobežotu turpmāku slimības izplatību.

1.2. Āfrikas cūku mēra kontrole, uzliesmojumu izmeklēšana un biodrošība

Eiropas Savienībā ir noteikti vienoti A kategorijas dzīvnieku slimību kontroles principi un prasības. Āfrikas cūku mēris ir A kategorijas slimība. Regula (ES) 2020/687 nosaka pamatnoteikumus slimības apkarošanas pasākumiem, kas piemērojami skartajās cūku novietnēs ĀCM uzliesmojuma gadījumā. Eiropas Savienības tiesību akti paredz, ka kompetentajai iestādei ir jāizstrādā un regulāri jāatjaunina ārkārtas rīcības plāni, kā arī jānodrošina detalizētas instrukcijas par pasākumiem, kas īstenojami ĀCM uzliesmojuma gadījumā (EC, 2016).

Ārkārtas rīcības plāniem jānodrošina atbilstošs resursu sadalījums un skaidri jānosaka vadības struktūra valsts, reģionālajā un vietējā līmenī. Tajos jāietver vispārējās atbalsta funkcijas, piemēram, komunikācija, loģistika, cilvēkresursu un materiālo resursu pārvaldība, kā arī gatavības un slimības kontroles pasākumi. Šo pasākumu mērķis ir nodrošināt ātru un efektīvu reaģēšanu uz A kategorijas

slimību uzliesmojumiem un novērst slimības izplatīšanos no skartajiem dzīvniekiem un novietnēm uz neskartiem dzīvniekiem un novietnēm.

Efektīvai slimības kontrolei būtiska nozīme ir detalizētu instrukciju izstrādei un regulārai aktualizēšanai. Instrukcijās tiek noteiktas un aprakstītas darbības procedūras, kas īstenojamas uzliesmojuma gadījumā, lai kontrolētu un izskaustu slimību. Tās ietver detalizētus tehniskos norādījumus par konkrētu dzīvnieku infekcijas slimību apkarošanu, tostarp slimības paziņošanas kārtību, diagnostikas kritērijiem un iespējām, epidemioloģisko izmeklēšanu, ierobežojumu zonu noteikšanu un tajās piemērojamajiem kontroles pasākumiem, vakcinācijas plāniem, dzīvnieku nogalināšanu un līķu iznīcināšanu, tīrīšanu un dezinfekciju, kā arī novietņu atjaunošanu pēc uzliesmojuma. No zinātniskā viedokļa šāda sagatavotības plānošana ir īpaši svarīga, jo ĀCM vīruss ir noturīgs apkārtējā vidē un spēj izplatīties gan tiešā, gan netiešā ceļā, tādēļ slimības ierobežošanai nepieciešama koordinēta un nekavējoša rīcība (EFSA, 2021; WOAH, 2023).

Slimības kontroles un biodrošības pasākumi skartajās novietnēs jāievieš nekavējoties, īpašu uzmanību pievēršot dzīvnieku un dzīvnieku izcelsmes produktu pārvietošanas ierobežošanai. Lai novērstu infekcijas izplatīšanos no skartajiem dzīvniekiem un novietnēm, nepieciešams izolēt visus dzīvniekus, par kuriem ir aizdomas par inficēšanos, pārtraukt jebkādu cūku pārvietošanu uz novietni vai no tās, kā arī nodrošināt, ka kūtsmēsli, pakaiši un citi materiāli vai vielas, kas varētu būt kontaminēti, tiek uzglabāti līdz to iznīcināšanai, apstrādei vai tīrīšanai un dezinfekcijai. Papildus jāīsteno biodrošības pasākumi, lai novērstu jebkādu turpmāku slimības izplatīšanās risku.

Ap skarto novietni jānosaka ierobežojumu zona, kas ietver aizsardzības un uzraudzības zonu, lai novērstu turpmāku slimības izplatīšanos. Kompetentā iestāde nosaka ierobežojumus dzīvnieku un produktu pārvietošanai aizsardzības un uzraudzības zonās, no tām vai caur tām, kā arī aizliedz citas darbības, kas varētu radīt slimības izplatīšanās risku. Uzraudzības zonā piemērojamie kontroles pasākumi ietver īpašas prasības attiecībā uz dzīvniekiem, no tiem iegūtajiem produktiem, kā arī citām vielām un materiāliem, kas var būt kontaminēti.

Šo pasākumu zinātniskais pamatojums balstās uz ĀCM vīrusa spēju ilgstoši saglabāties organiskajos materiālos, piemēram, kūtsmēslos, pakaišos un kontaminētos produktos, kā arī izplatīties netiešā ceļā ar kontaminētu priekšmetu un aprīkojuma starpniecību. Tādēļ stingra pārvietošanas kontrole un biodrošības prasību ievērošana ir būtiski priekšnosacījumi infekcijas transmisijas ķēžu pārraušanai un slimības tālākas izplatības novēršanai (EFSA, 2021; WOAH, 2022).

Saskaņā ar Eiropas Savienības tiesību aktiem katrai dalībvalstij ir jāizveido, jāievieš un jāuztur sistēma, kas nodrošina dzīvnieku infekcijas slimību agrīnu atklāšanu. Eiropas Savienības dalībvalstīm jānodrošina, ka dzīvnieku īpašnieki, turētāji un citas fiziskas vai juridiskas personas nekavējoties informē kompetento iestādi par aizdomām par ĀCM vai slimības konstatēšanu. Savukārt

veterinārajam dienestam nekavējoties jāuzsāk izmeklēšana, lai apstiprinātu vai izslēgtu aizdomas par ĀCM klātbūtni (EC, 2019).

Tiesību akti paredz, ka kompetentajai iestādei jāveic izmeklēšana vairākos slimības uzraudzības posmos: ja ir radušās aizdomas par slimību, pēc slimības apstiprināšanas, kā arī gadījumos, kad nepieciešams izslēgt slimības izplatīšanos uz epidemioloģiski saistītām novietnēm vai citām vietām. Šādas izmeklēšanas ietver klīnisko izmeklēšanu un paraugu ņemšanu laboratoriskajiem izmeklējumiem. No epidemioloģiskā viedokļa agrīnai slimības atklāšanai un savlaicīgai ziņošanai ir izšķiroša nozīme, jo ĀCM uzliesmojumi bieži tiek atklāti novēloti nespecifisko sākotnējo klīnisko pazīmju dēļ, bet jebkura kavēšanās būtiski palielina slimības tālākas izplatības risku (EFSA, 2018).

ĀCM uzliesmojumu gadījumā mājas cūku novietnēs Eiropas Savienības tiesību akti paredz arī padziļinātas epidemioloģiskās izmeklēšanas veikšanu, lai noteiktu iespējamo vīrusa izcelsmi, rekonstruētu augsta riska periodu (HRP), tas ir, novērtētu laika posmu, kurā vīruss atradies novietnē pirms tā atklāšanas, kā arī iegūtu informāciju par iespējamo slimības izplatīšanos uz citām novietnēm (EC, 2002; EC, 2016; EC, 2019).

Līdz 2021. gada 21. aprīlim Eiropas Savienības tiesību akti paredzēja nejauši atlasītu asins paraugu ņemšanu no cūkām skartajā novietnē dzīvnieku likvidēšanas laikā, lai veiktu seroloģiskos un virusoloģiskos izmeklējumus. Minimālajam paraugu skaitam bija jānodrošina iespēja konstatēt 10 % seroprevalenci katrā novietnes apakšvienībā ar 95 % ticamības līmeni (EC, 2003).

Ņemot vērā, ka pašlaik cirkulējošie ĀCM vīrusa II genotipa celmi izraisa vairāk nekā 90 % letalitāti, seropozitīvas un klīniski veselas cūkas tiek konstatētas reti, jo lielākā daļa inficēto dzīvnieku neizdzīvo slimības akūto fāzi (Blome et al., 2020). Tādēļ virulentu ĀCM vīrusa celmu cirkulācijas apstākļos uz nejaušu seroloģisko paraugu ņemšanu balstīta uzraudzība vairs netika rekomendēta kā metode vīrusa izplatības novērtēšanai skartajā novietnē (EFSA, 2021). Mērķtiecīgās uzraudzības pieejas pamatā bija pieņēmums, ka inficētie dzīvnieki saslims un ies bojā (Busch et al., 2021; Blome et al., 2020). Vienlaikus antivielu noteikšanai joprojām ir būtiska nozīme, jo tā sniedz papildu informāciju par vīrusa klātbūtnes ilgumu novietnē, tādēļ seroloģiskie izmeklējumi joprojām tiek izmantoti epidemioloģiskās izmeklēšanas ietvaros.

Viens no obligātajiem ĀCM apkarošanas pasākumiem ir tādu cūku nogalināšana, kuras ir inficētas, iespējami inficētas vai var veicināt slimības izplatīšanos. Visas uzņēmīgo sugu dzīvnieku grupas skartajā novietnē pēc iespējas ātrāk jānogalina uz vietas tādā veidā, lai nogalināšanas procesa laikā un pēc tā tiktu novērsts jebkāds slimības ierosinātāja izplatīšanās risks. Tādēļ ĀCM uzliesmojuma gadījumā tiek likvidētas visas cūkas skartajā novietnē neatkarīgi no tās lieluma, un dzīvnieku līķi tiek droši iznīcināti dzīvnieku izcelsmes blakusproduktu pārstrādes uzņēmumos.

Tomēr Eiropas Savienības tiesību akti paredz iespēju kompetentajai iestādei noteiktos gadījumos atkāpties no prasības likvidēt visas cūkas novietnē, ja tā

sastāv no vairākām epidemioloģiskajām vienībām. Šāda atkāpe var tikt piemērota tikai pēc riska novērtējuma veikšanas, labvēlīgu laboratorisko izmeklējumu rezultātu saņemšanas un ar nosacījumu, ka epidemioloģiskajā izmeklēšanā nav konstatēta saikne starp epidemioloģiskajām vienībām, kurās slimība apstiprināta, un vienībām, kurās tā nav konstatēta (EC, 2019).

Pilnīga dzīvnieku likvidēšana ir zinātniski pamatota pieeja, jo pret ĀCM nav pieejama efektīva ārstēšana vai vakcīna, bet inficētie dzīvnieki ir nozīmīgs vīrusa izdalīšanas avots. Tādēļ ātra inficēto un potenciāli inficēto dzīvnieku likvidēšana ir būtiska, lai novērstu infekcijas avotus un pārtrauktu slimības tālāku izplatīšanos (WOAH, 2023). Tāpat būtiska nozīme ir drošai dzīvnieku līķu iznīcināšanai, jo ĀCM vīruss tajos spēj saglabāt infekciozitāti ilgstoši un var veicināt apkārtējās vides kontaminēciju un slimības tālāku izplatību (EFSA, 2018).

Latvijā par visiem aizdomīgajiem ĀCM gadījumiem tiek ziņots praktizējošam veterinārārstam vai Pārtikas un veterinārajam dienestam (PVD). Klīnisko izmeklēšanu, pēcnāves apskati un paraugu noņemšanu veic praktizējoši veterinārārsti vai oficiālie veterinārārsti. Paraugi laboratoriskajiem izmeklējumiem jānosūta uz Nacionālo references laboratoriju (NRL) (MK, 2004). Ja laboratoriskajos izmeklējumos tiek konstatēts ĀCM vīrusa genoms vai antivielas pret ĀCM vīrusu, dzīvnieks tiek uzskatīts par inficētu, un kompetentā iestāde pieņem lēmumu par uzliesmojuma apstiprināšanu. Ar ĀCM izmeklēšanu saistītās laboratorisko analīžu izmaksas sedz valsts budžets.

Lai nodrošinātu savlaicīgu ĀCM uzliesmojumu atklāšanu, ņemot vērā vīrusa augsto letalitāti, zemo mirstību uzliesmojuma sākumposmā un salīdzinoši zemo lipīgumu, tika pieņemts lēmums ieviest pastiprinātas pasīvās uzraudzības sistēmu cūku novietnēs, kas atrodas ĀCM riska teritorijās. Šādas pieejas ieviešanu būtiski ietekmēja lielo komerciālo cūku novietņu uzliesmojumu izmeklēšanas rezultāti, īpaši 2017. gada janvārī konstatētais uzliesmojums komerciālā cūku novietnē Latvijā. Vēlāk attiecīgi tika pilnveidoti arī Eiropas Savienības tiesību akti, nosakot juridisku pienākumu ieviest un uzturēt pastiprinātas pasīvās uzraudzības sistēmu. Saskaņā ar pašlaik spēkā esošajām Eiropas Savienības prasībām dzīvnieku īpašniekam vai turētājam katrā epidemioloģiskajā vienībā katru nedēļu jānodrošina laboratoriska izmeklēšana vismaz pirmajām divām nobeigušajām cūkām, kas vecākas par 60 dienām, vai, ja šādu dzīvnieku nav, jebkurai cūkai, kas nobeigusies pēc atšķiršanas (EC, 2023).

PVD regulāri sniedz informāciju Eiropas Komisijai, izmantojot Dzīvnieku slimību informācijas sistēmu (ADIS), un Pasaules Dzīvnieku veselības organizācijai (WOAH), izmantojot Pasaules dzīvnieku veselības informācijas sistēmu (WAHIS), par ĀCM gadījumiem mežacūkām un uzliesmojumiem mājas cūku novietnēs (EC, 2020; WOAH WAHIS). Šāda informācijas apmaiņa nodrošina savlaicīgu informācijas apriti starp valstīm par konstatētajiem slimības gadījumiem un īstenotajiem kontroles pasākumiem, ļaujot kompetentajām

iestādēm atbilstoši reaģēt, novērtēt riskus un īstenot nepieciešamos preventīvos pasākumus.

Lai nodrošinātu pastāvīgu slimības kontroles pasākumu izvērtēšanu un veicinātu informētību par ĀCM, PVD regulāri organizē sanāksmes praktizējošiem veterinārārstiem, oficiālajiem veterinārārstiem, mednieku organizācijām un cūku audzētājiem, sniedzot aktuālo informāciju par epidemioloģisko situāciju mežacūku populācijā, ĀCM uzliesmojumiem, slimības apkarošanas pasākumiem un biodrošības prasību ievērošanas nozīmi. Sabiedrības informēšanas pasākumos bieži tiek iesaistīti arī masu saziņas līdzekļi – prese, radio un televīzija (PVD, 2021). Informatīvās kampaņas tiek papildinātas ar speciāli sagatavotiem videomateriāliem un informatīviem bukletiem, kuru saturs tiek pielāgots attiecīgajai mērķauditorijai un komunikācijas mērķiem (PVD tīmekļvietne).

Informētība par slimību ir viens no būtiskākajiem priekšnosacījumiem infekcijas novēršanai vai savlaicīgai atklāšanai. Informatīvajās kampaņās tiek uzrunātas dažādas mērķgrupas, tostarp sabiedrība kopumā, dzīvnieku turētāji, lauksaimnieki, praktizējošie veterinārārsti, oficiālie veterinārārsti, mednieki un citas iesaistītās personas.

Tā kā pret ĀCM nav pieejama ne efektīva vakcīna, ne ārstēšanas iespējas, vienīgais veids, kā novērst vīrusa iekļūšanu novietnē, ir preventīvo pasākumu ieviešana. Biodrošība ir efektīvākais profilakses līdzeklis pret ĀCM. Tā ir pasākumu sistēma, kas jāizstrādā, jāievieš un pastāvīgi jāuztur, ņemot vērā katras konkrētās novietnes īpatnības. Visām novietnēm, kurās tiek turētas cūkas, jānodrošina Ministru kabineta noteikumos noteikto biodrošības prasību ievērošana (MK, 2015).

Papildus tam cūku novietņu operatoriem, kuru novietnes atrodas ĀCM ierobežojumu zonās, jānodrošina pastiprinātu biodrošības pasākumu ieviešana, lai saņemtu atļauju cūku pārvietošanai ierobežojumu zonu ietvaros vai ārpus tām (EC, 2023).

Galvenās biodrošības prasības paredz, ka jānovērš jebkāda tieša vai netieša saskare starp mājas cūkām un mežacūkām. Novietnēs jāievēro atbilstoši higiēnas pasākumi, tostarp apģērba un apavu maiņa, ieejot telpās, kur tiek turētas cūkas, un izejot no tām, roku mazgāšana un dezinfekcija, kā arī apavu dezinfekcija pie ieejas cūku turēšanas telpās. Personām, kuras piedalījušās mežacūku medībās, vismaz 48 stundas pēc medībām aizliegts nonākt kontaktā ar cūkām. Tāpat jānodrošina, ka novietnes teritorijā, tostarp cūku turēšanas telpās, neiekļūst nepiederošas personas vai transportlīdzekļi, kā arī jāveic personu un transportlīdzekļu uzskaite, kas iekļūst teritorijā, kur tiek turētas cūkas.

Ēkām, kurās tiek turētas cūkas, jābūt izbūvētām tā, lai tajās nevarētu iekļūt citi dzīvnieki un nonākt saskarē ar cūkām, to barību vai pakaišiem. Tām jānodrošina iespēja veikt roku mazgāšanu un dezinfekciju, jābūt piemērotām vietām apavu un apģērba maiņai pie ieejas dzīvnieku turēšanas telpās, kā arī jābūt ierīkotam drošam nožogojumam vismaz ap teritoriju, kur tiek turētas cūkas, un vietām, kur tiek uzglabāta barība un pakaiši.

Komerciālajām cūku novietnēm ir jāizstrādā kompetentās iestādes apstiprināts biodrošības plāns. Tajā jāparedz „tīro" un „netīro" zonu nodalīšana personālam atbilstoši novietnes tipam, piemēram, ģērbtuves, dušas un ēdināšanas telpas, kā arī jānosaka kārtība jaunu dzīvnieku ievietošanai novietnē. Biodrošības plānā jāiekļauj procedūras telpu, transportlīdzekļu un aprīkojuma tīrīšanai un dezinfekcijai, personīgās higiēnas prasības, kā arī iekšējā audita vai pašnovērtējuma sistēma biodrošības prasību ievērošanas kontrolei (EC, 2023; MK, 2015).

Neraugoties uz izstrādātajiem normatīvajiem regulējumiem, uzraudzības sistēmām, uzliesmojumu izmeklēšanas prasībām un biodrošības pasākumiem, ĀCM uzliesmojumi komerciālajās cūku novietnēs joprojām rada būtiskus izaicinājumus saistībā ar slimības agrīnu atklāšanu, infekcijas notikumu rekonstrukciju un slimības izplatības novērtēšanu skartajās novietnēs. Šie izaicinājumi uzsver nepieciešamību pilnveidot epidemioloģiskās izmeklēšanas pieejas, kas spētu nodrošināt ticamus pierādījumus uzliesmojumu pārvaldības un kontroles lēmumu pieņemšanai novietnes līmenī. Tādēļ pastāv nepieciešamība pilnveidot agrīnas slimības atklāšanas pieejas un strukturēt epidemioloģisko izmeklēšanu skartajās cūku novietnēs, lai veicinātu uz pierādījumiem balstītu uzliesmojumu kontroli.

2. HIPOTĒZE, MĒRĶIS UN UZDEVUMI

Pētījuma hipotēzes

1) Hipotēzēs balstīta epidemioloģiskā izmeklēšanas pieeja, kas ietver strukturētu no nespeciālistiem iegūtas informācijas izvērtēšanu, ļauj ticami identificēt ticamākos Āfrikas cūku mēra (ĀCM) vīrusa iekļūšanas ceļus cūku ganāmpulkos.

2) Mērķtiecīgas paraugu ņemšanas stratēģijas, kuru pamatā ir epidemioloģisko apakšvienību definēšana un kategorizēšana, klīniski slimu vai nobeigušos dzīvnieku atlase un būtiskāko epidemioloģisko rādītāju izvērtēšana, uzlabo ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanas efektivitāti un savlaicīgumu, nodrošinot skarto un neskarto vienību telpisku identificēšanu un klasificēšanu cūku novietnēs, savukārt ātrie novietnē izmantojamie testi, piemēram, laterālās plūsmas testi (LFD), var kalpot kā papildu rīks līdztekus standarta laboratoriskajām diagnostikas metodēm (PĶR, IPT un ELISA).

3) Galvenos epidemioloģiskos parametrus iespējams sistemātiski identificēt un izmantot precīzai ĀCM uzliesmojumu augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcijai skartajās cūku novietnēs.

4) ĀCM uzliesmojumi komerciālajās cūku novietnēs var ilgstoši palikt neatklāti lēnās un nevienmērīgās infekcijas izplatības novietnes ietvaros, kā arī zemās mirstības dēļ uzliesmojuma sākumposmā, kas uzsver nepieciešamību pēc mērķtiecīgas uzraudzības agrīnākai slimības atklāšanai.

Pētījuma mērķis

Pētījuma mērķis bija pilnveidot Āfrikas cūku mēra (ĀCM) kontroles stratēģijas, uzlabojot un stiprinot agrīnas uzliesmojumu atklāšanas un epidemioloģiskās izmeklēšanas pieejas skartajās cūku novietnēs, izvērtējot esošās uzraudzības sistēmas un uzliesmojumu izmeklēšanas metodoloģijas.

Pētījuma uzdevumi

1) Izmeklēt iespējamos ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļus cūku ganāmpulkos, izmantojot hipotēzēs balstītu epidemioloģisko pieeju un izvērtējot no nespeciālistiem iegūto informāciju (I, IV).

2) Izvērtēt un pilnveidot paraugu ņemšanas stratēģijas ĀCM vīrusa izplatības novērtēšanai skartajās cūku novietnēs (II, III).

3) Novērtēt novietnē izmantojamo laterālās plūsmas testu (LFD) pielietojamību kā papildu diagnostikas rīku ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā un salīdzināt to veiktspēju ar standarta laboratoriskajām diagnostikas metodēm, tostarp PĶR, IPT un ELISA (III).

4) Identificēt un analizēt galvenos epidemioloģiskos parametrus, kas nepieciešami ĀCM uzliesmojumu augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcijai skartajās cūku novietnēs (I, II).

5) Izvērtēt Latvijā izmantotās uzraudzības pieejas attiecībā uz to efektivitāti ĀCM uzliesmojumu agrīnā atklāšanā (I, II).

3. MATERIĀLI UN METODES

3.1. Pētījuma dizains un pētījuma vietas

Laikposmā no 2017. līdz 2020. gadam Latvijā tika veikti četri savstarpēji saistīti epidemioloģiskie pētījumi komerciālās cūku novietnēs, kurās bija konstatēts Āfrikas cūku mēris (ĀCM). Pētījumi bija vērsti uz ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu noteikšanu, agrīnu uzliesmojumu atklāšanu, augsta riska perioda (HRP) rekonstrukciju, vīrusa izplatību novietnes ietvaros, paraugu ņemšanas stratēģijām, ātrajām diagnostikas metodēm un epidemioloģiski nozīmīgas lauka apstākļos iegūtas informācijas interpretāciju.

I pētījumā tika analizēti ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļi un agrīna slimības atklāšana komerciālā pilna cikla cūku novietnē Latvijas centrālajā daļā, kurā tika turētas aptuveni 5000 cūkas.

II pētījumā tika vērtēta augsta riska perioda (HRP) noteikšana un ĀCM vīrusa izplatība divās lielās komerciālās pilna cikla cūku novietnēs. Vienā no novietnēm, kas atradās Latvijas dienvidaustrumu daļā, tika turētas aptuveni 6000 cūkas, savukārt otrā novietnē Latvijas dienvidrietumu daļā – aptuveni 16 000 cūkas.

III pētījums bija veltīts paraugu ņemšanas stratēģijām un to efektivitātei ĀCM skartās cūku novietnēs. Pētījumā tika iekļautas trīs komerciālas pilna cikla cūku novietnes Latvijas dienvidrietumu daļā ar attiecīgi aptuveni 31, 1800 un 9000 cūkām.

IV pētījumā tika analizēta nespeciālistu sniegtās ar slimību saistītās informācijas nozīme ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā vairākās Eiropas valstīs, tostarp Latvijā.

Uzliesmojumu apstiprināšanas laikā visas pētījumā iekļautās novietnes atradās teritorijās, kurās bija noteikti ar ĀCM saistīti ierobežojumi saistībā ar vīrusa cirkulāciju mežacūku populācijā (EC, 2014; Oļševskis et al., 2020; EFSA, 2021).

3.2. ĀCM uzliesmojuma apstiprināšana un izmeklēšanas uzsākšana

Visas lauka izmeklēšanas tika uzsāktas nekavējoties pēc tam, kad ĀCM uzliesmojumu bija oficiāli apstiprinājis Pārtikas un veterinārais dienests (PVD). Saskaņā ar Latvijas normatīvajiem aktiem cūku īpašniekiem vai turētājiem ir pienākums ziņot par aizdomām par ĀCM infekciju praktizējošam veterinārārstam vai PVD (MK, 2004).

Pēc paziņojuma saņemšanas oficiālie veterinārārsti apmeklēja attiecīgo novietni un laboratoriskajiem izmeklējumiem noņēma asins paraugus (EDTA asinis un asins serumu) un audu paraugus (liesu un limfmezglus), lai apstiprinātu vai izslēgtu ĀCM infekciju.

Ja laboratoriskajos izmeklējumos tika konstatēts ĀCM vīrusa genoms vai ĀCM specifiskas antivielas, dzīvnieks tika uzskatīts par inficētu un PVD oficiāli apstiprināja uzliesmojumu.

Turpmākās izmeklēšanas tika veiktas saskaņā ar spēkā esošajiem Eiropas Savienības un Latvijas normatīvajiem aktiem, kas reglamentē ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanu un slimības apkarošanas pasākumus (EC, 2002; EC, 2016).

3.3. Epidemioloģiskā uzliesmojumu izmeklēšana un datu vākšana

Pēc ĀCM uzliesmojuma apstiprināšanas nekavējoties tika uzsākta epidemioloģiskā izmeklēšana. Atkarībā no epidemioloģiskās situācijas skartajā novietnē izmeklēšana ietvēra vienu vai vairākus apmeklējumus uz vietas.

Lai iegūtu un pārbaudītu epidemioloģiski nozīmīgu informāciju, tika veiktas intervijas ar novietņu īpašniekiem, veterinārārstiem, zootehniķiem, transportlīdzekļu vadītājiem un citiem darbiniekiem, kuri bija iesaistīti cūku aprūpē vai novietnes darbības nodrošināšanā. Papildus tika izvērtētas novietņu biodrošības sistēmas un saimniekošanas procedūras.

Tika pārskatīti un analizēti dati par dzīvnieku pārvietošanu, mirstību, ārstēšanu, kritušo dzīvnieku izvešanu, cūku pārvietošanu novietnes ietvaros, kā arī laboratorisko izmeklējumu rezultāti.

Epidemioloģiskās izmeklēšanas un laboratorisko izmeklējumu vajadzībām papildus tika noņemti paraugi no nobeigušām cūkām vai no dzīvām cūkām pirms to likvidēšanas.

3.3.1. Hipotēzēs balstīta ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana

Lai atvieglotu un strukturētu iespējamo ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšanu, I pētījuma ietvaros tika izstrādāta un praktiski pielietota hipotēzēs balstīta epidemioloģiskās izmeklēšanas pieeja. Balstoties uz zināmajiem ĀCM transmisijas ceļiem, tika formulētas trīs darba hipotēzes par iespējamiem vīrusa iekļūšanas ceļiem: mežacūku hipotēze, gaļas/kontaminētu priekšmetu hipotēze un tirdzniecības hipotēze.

Katra hipotēze tika izvērtēta atsevišķi, analizējot epidemioloģisko, laboratorisko, saimniekošanas un biodrošības informāciju, lai izslēgtu maz ticamos transmisijas ceļus vai identificētu ticamāko vīrusa iekļūšanas ceļu. Izvērtēšana ietvēra novietnes infrastruktūras, nožogojumu, transportlīdzekļu, aprīkojuma higiēnas procedūru, iekšējo darba plūsmu, personāla pārvietošanās, barības un pārtikas aprites prakses, kā arī dzīvnieku un dažādu materiālu pārvietošanas analīzi.

3.3.2. Augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija

Augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija tika veikta, lai noteiktu iespējamo laika posmu, kurā ĀCM vīruss bija cirkulējis novietnē pirms uzliesmojuma atklāšanas. HRP noteikšanai tika izstrādātas epidemioloģiski nozīmīgu notikumu laika līnijas, izmantojot saslimstības un mirstības datus, pēcnāves izmeklēšanas rezultātus, laboratorisko izmeklējumu rezultātus, klīniskos novērojumus, dzīvnieku pārvietošanas uzskaites datus, informāciju par kūtsmēslu izvešanu, datus par cūku pārvietošanu novietnes ietvaros un ar biodrošību saistītos novērojumus.

Lai rekonstruētu iespējamo vīrusa izplatību novietnēs, tika apkopoti, analizēti un interpretēti klīniskie novērojumi, kā arī vīrusa genoma un antivielu noteikšanas rezultāti (ELISA un IPT), kas iegūti no dzīvām un nobeigušām cūkām dažādos aizgaldos un kūtīs. Īpaša uzmanība tika pievērsta epidemioloģiski nozīmīgiem notikumiem, kas saistīti ar personāla higiēnu, pārtikas lietošanu novietnē, transporta aktivitātēm un novietnes iekšējām pārvaldības procedūrām.

3.3.3. Vīrusa izplatības novērtēšana novietnes ietvaros

ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana skartajās novietnēs bija vērsta uz inficēto epidemioloģisko vienību identificēšanu un infekcijas izplatības rakstura izvērtēšanu novietnes ietvaros. Tika izvērtētas un analīzē iekļautas šādas klīniskās un patoloģiski anatomiskās pazīmes, kas var liecināt par iespējamu ĀCM infekciju: paaugstināta ķermeņa temperatūra un drudzis, ēstgribas zudums, aborti, caureja, vemšana ar asinīm, asinsizplūdumi ādā un iekšējos orgānos, palielināti vai hemorāģiski limfmezgli, kā arī liesas un nieru bojājumi.

Infekcijas izplatība starp kūtīm, aizgaldiem un ražošanas vienībām tika vērtēta, izmantojot klīnisko novērojumu datus, mirstības rādītājus, laboratorisko izmeklējumu rezultātus un informāciju par cūku pārvietošanu novietnes ietvaros. Izmeklēšanas gaitā tika izvērtēts arī tas, vai vīrusa izplatība notikusi vienmērīgi visā novietnē vai arī infekcija bijusi ierobežota atsevišķās epidemioloģiskajās vienībās.

3.3.4. Nespeciālistu sniegtās informācijas iegūšana un interpretācija

IV pētījumā tika analizēta nespeciālistu sniegtās epidemioloģiski nozīmīgās informācijas loma ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā. No skarto novietņu īpašniekiem, darbiniekiem, veterinārārstiem un citām novietnes darbībā iesaistītām personām tika iegūta informācija par iespējamiem ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļiem un iespējamo vīrusa iekļūšanas laiku cūku ganāmpulkā.

Respondentu izteiktie viedokļi un pieņēmumi tika uzskatīti par subjektīvu informāciju un klasificēti atbilstoši to epidemioloģiskajai ticamībai: ticami un tālāk izmeklējami, maz ticami, kā arī maz ticami, bet pilnībā neizslēdzami.

Iegūtā informācija tika interpretēta kopā ar epidemioloģiskās, laboratoriskās, klīniskās un biodrošības izmeklēšanas rezultātiem.

3.4. Paraugu ņemšanas stratēģija

3.4.1. Mērķtiecīga paraugu ņemšanas pieeja

Paraugu ņemšana laboratoriskajiem izmeklējumiem tika veikta visās pētījumos iekļautajās ĀCM skartajās cūku novietnēs. Lai novērtētu ĀCM vīrusa izplatību novietnes ietvaros un rekonstruētu iespējamos transmisijas ceļus, no cūkām dažādās kūtīs un epidemioloģiskajās vienībās tika noņemti asins paraugi (EDTA asinis un asins serums) un audu paraugi (liesa un limfmezgli). Pētījumos tika izmantota mērķtiecīga izlases veida paraugu ņemšana. Paraugi galvenokārt tika noņemti no klīniski slimiem dzīvniekiem, nobeigušām cūkām, kā arī no dzīvniekiem, kuriem bija tiešs epidemioloģiskais kontakts ar inficētiem vai iespējami inficētiem dzīvniekiem. Mērķtiecīga paraugu ņemšana bija vērsta uz aizdomīgu, slimu un nobeigušos dzīvnieku atlasi laboratoriskajiem izmeklējumiem.

3.1 attēls. **Klīniski slimu cūku piemēri, kas identificēti mērķtiecīgas uzliesmojuma izmeklēšanas laikā ĀCM skartās novietnēs: klīniski slimas sivēnmātes ar asinsizplūdumiem ausīs un ēstgribas zudumu** (foto: K. Lamberga)

3.2 attēls. **Klīniski slimu cūku piemēri, kas identificēti mērķtiecīgas uzliesmojuma izmeklēšanas laikā ĀCM skartās novietnēs: klīniski slimas sivēnmātes, abortēti augļi un ĀCM inficētas cūkas palielināta liesa** (foto: K. Lamberga)

3.4.2. Epidemioloģisko vienību kategorizācija

III pētījuma ietvaros tika izstrādāta un pielietota strukturēta trīs posmu paraugu ņemšanas stratēģija, kas ietvēra epidemioloģisko apakšvienību identificēšanu, apakšvienību kategorizēšanu atbilstoši infekcijas iespējamībai un mērķtiecīgu dzīvnieku atlasi laboratoriskajiem izmeklējumiem.

Katrai epidemioloģiskajai apakšvienībai tika piešķirta kategorija atbilstoši iespējamībai, ka tajā cirkulē ĀCM vīruss. Kategorizācija tika veikta, ņemot vērā klīniskos novērojumus, mirstības rādītājus, epidemioloģiskās saiknes un iepriekš iegūtos laboratorisko izmeklējumu rezultātus.

Pirms mērķtiecīgas dzīvnieku atlases paraugu noņemšanai visās epidemioloģiskajās apakšvienībās tika veikta cūku klīniskā apskate. Paraugi tika noņemti no visām cūkām ar klīniskām slimības pazīmēm, kā arī no dzīvniekiem, kuriem bija tiešs kontakts ar klīniski slimām cūkām.

3.4.3. Klīniskās vērtēšanas sistēma

III pētījuma ietvaros tika izstrādāta un izmantota klīniskās vērtēšanas sistēma klīnisko pazīmju izvērtēšanai un ātro novietnē izmantojamo diagnostisko testu rezultātu interpretācijai. Paraugu ņemšanai atlasītās cūkas tika klasificētas atbilstoši klīnisko pazīmju smaguma pakāpei šādās kategorijās: bez klīniskām pazīmēm, vieglas klīniskās pazīmes, smagas klīniskās pazīmes un nobeigušās cūkas.

Laboratorisko izmeklējumu un ātro diagnostisko testu rezultāti tika analizēti un salīdzināti ar piešķirtajiem klīniskajiem vērtējumiem.

3.5. Paraugu sagatavošana un PĶR analīze

Visi EDTA asiņu un audu paraugi tika uzglabāti, sagatavoti un apstrādāti saskaņā ar Nacionālās references laboratorijas standarta operāciju procedūrām, izmantojot laminārās plūsmas drošības kabinetu.

Orgānu paraugi, kas paredzēti nukleīnskābju noteikšanai, tika mehāniski homogenizēti pēc atšķaidīšanas fosfātu buferšķīdumā (PBS) attiecībā 1:10.

Vīrusa DNS ekstrakcija tika veikta, izmantojot automatizēto nukleīnskābju izolēšanas sistēmu NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux, Francija) saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Ekstrakcijas kvalitātes kontrolei tika izmantota heteroloģā iekšējās kontroles DNS (intype IC-DNA; QIAGEN, Vācija), kā aprakstīts Hoffmann et al. (2006).

Polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR) ĀCM vīrusa genoma noteikšanai tika veikta saskaņā ar Eiropas Savienības references laboratorijas ĀCM diagnostikas protokolu (Fernández-Pinero et al., 2013).

Rezultāti tika reģistrēti kā kvantifikācijas cikla (Ct) vērtības un interpretēti kā pozitīvi vai negatīvi atbilstoši iegūtajām Ct vērtībām.

3.6. Seroloģiskie izmeklējumi (ELISA un IPT)

Seroloģiskie izmeklējumi tika veikti, lai noteiktu ĀCM vīrusam specifiskas antivielas. Asins seruma paraugu izmeklēšanai saskaņā ar ražotāja norādījumiem tika izmantots komerciāli pieejamais bloķējošās ELISA tests Ingezim PPA Compac (11.PPA.K.3, Ingenasa, Madride, Spānija).

Papildus seruma vai orgānu šķidruma paraugiem tika veikta netiešā imūnperoksidāzes metode (IPT) saskaņā ar Eiropas Savienības references laboratorijas ĀCM diagnostikas protokolu (European Union Reference Laboratory for ASF, 2018). IPT tika izmantota zemu antivielu titru noteikšanai, kurus ar ELISA metodi nebija iespējams identificēt.

Epidemioloģiskās izmeklēšanas laikā tika veikta virusoloģisko un seroloģisko izmeklējumu rezultātu kombinēta interpretācija. ĀCM vīrusa genoma noteikšana ar kvantitatīvo polimerāzes ķēdes reakciju (qPĶR) kopā ar pozitīvu IPT un negatīvu ELISA rezultātu nobeigušām cūkām tika interpretēta kā nesenas infekcijas pazīme, kas, visticamāk, bija notikusi aptuveni 10 dienas pirms paraugu noņemšanas.

3.7. Ātrie laterālās plūsmas testi (LFD)

III pētījuma ietvaros tika novērtēta ātro laterālās plūsmas testu (LFD) pielietojamība uzliesmojumu apstākļos lauka pētījumos. Tika izmantoti divu veidu LFD testi: antigēna LFD ĀCM vīrusa antigēna noteikšanai asins paraugos un antivielu LFD ĀCM vīrusam specifisku antivielu noteikšanai.

Antigēna noteikšanai tika izmantots INgezim PPA CROM Ag LFD tests (11.ASF.K.42, Ingenasa, Madride, Spānija), savukārt antivielu noteikšanai tika izmantots atbilstošais INgezim PPA CROM Ab LFD tests (11.PPA.K.41, Ingenasa, Madride, Spānija). Abi testi tika veikti saskaņā ar ražotāja norādījumiem.

Lauka apstākļos iegūtie rezultāti tika salīdzināti ar standarta laboratorisko diagnostikas metožu rezultātiem, tostarp kvantitatīvās polimerāzes ķēdes reakcijas (qPĶR), ELISA un IPT rezultātiem.

3.3 attēls. **Ātrā laterālās plūsmas testa (LFD) izmantošana lauka apstākļos ĀCM uzliesmojuma izmeklēšanas laikā** (foto: M. Seržants)

3.8. Statistiskā analīze

Antigēna LFD testu diagnostiskā jutība un specifiskums tika aprēķināti katrai III pētījumā iekļautajai novietnei atsevišķi, izmantojot qPĶR rezultātus kā references metodi.

Jutība tika aprēķināta pēc formulas: **jutība = patiesi pozitīvi / (patiesi pozitīvi + viltus negatīvi).** Savukārt specifiskums tika aprēķināts pēc formulas: **specifiskums = patiesi negatīvi / (patiesi negatīvi + viltus pozitīvi).**

Jutības un specifiskuma novērtējumu ticamības intervāli tika aprēķināti, izmantojot Epitools epidemioloģiskos kalkulatorus (Sergeant, 2018).

Lai novērtētu saistību starp klīniskajiem vērtējumiem un laboratorisko izmeklējumu rezultātiem, tika veikta Spīrmena korelācijas analīze, izmantojot statistiskās analīzes programmatūru XLSTAT Microsoft Excel videi (Addinsoft, 2019).

Visā izmeklēšanas procesā tika izmantota klīnisko, epidemioloģisko, virusoloģisko un seroloģisko rezultātu kombinēta interpretācija, lai rekonstruētu uzliesmojumu attīstības gaitu un pamatotu epidemioloģisko lēmumu pieņemšanu.

4. REZULTĀTI

4.1. ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana un augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija

ĀCM pētījumā iekļautajā novietnē tika apstiprināts 2017. gada janvāra vidū. Dzīvnieki tika turēti septiņās atsevišķās kūtīs. Kūtī, kurā tika identificētas pirmās klīniski slimās cūkas, atradās grupās turētas grūsnas sivēnmātes. Retrospektīvi izvērtējot pēcnāves izmeklēšanas datus, tika konstatēts, ka pirmā nobeigusies sivēnmāte bija reģistrēta jau 2016. gada 28. decembrī. Vēl četras cūkas saslima 4. janvārī un nobeidzās divas dienas vēlāk. Turpmākas nobeigušās sivēnmātes tika konstatētas 6., 9., 11., 12. un 13. janvārī.

Tikmēr vairākas sivēnmātes 9. janvārī tika pārvietotas uz citu kūti atnešanās vajadzībām, un divas no šīm cūkām tika atrastas nobeigušās 12. un 13. janvārī, kas liecināja par iespējamu vīrusa ievazāšanu atnešanās sektorā, pārvietojot inficētus dzīvniekus. Pirmais nobeigušais vaislinieks atsevišķā vaislas dzīvnieku vienībā tika konstatēts 7. janvārī, bet nākamais – 14. janvārī. Pirmie laboratoriskie izmeklējumi ĀCM vīrusa noteikšanai tika veikti cūkām, kas nobeidzās 13. janvārī. Uzliesmojuma apstiprināšanas brīdī jau bija nobeigušās 17 sivēnmātes. Tika konstatēts, ka darbinieks, kura pienākumos ietilpa mākslīgā apsēklošana, ikdienā strādāja visās trīs skartajās kūtīs.

Lai atbalstītu uzliesmojuma rekonstrukciju un augsta riska perioda (HRP) novērtēšanu, tika izveidota laika līnija, kurā apvienoti dati par saslimstību, mirstību, pēcnāves izmeklēšanas rezultātiem, cūku pārvietošanas uzskaiti un laboratorisko izmeklējumu rezultātiem. No 75 izmeklētajiem dzīvniekiem ĀCM vīrusa genoms tika konstatēts 23 cūkām, savukārt nevienam no izmeklētajiem dzīvniekiem netika konstatētas antivielas pret ĀCM vīrusu. Antivielu neesamība liecināja par akūtu infekcijas norisi. Pamatojoties uz iegūto epidemioloģisko un laboratorisko informāciju, tika secināts, ka vīruss novietnē bija iekļuvis aptuveni sešas nedēļas pirms uzliesmojuma apstiprināšanas.

Novērotā vīrusa izplatība novietnē infekcijas sākumposmā bija lēna. Pēc uzliesmojuma apstiprināšanas no cūkām skartajā sivēnmāšu vienībā tika noņemti vēl 50 paraugi, un tikai četrām cūkām tika konstatēts ĀCM vīrusa genoms.

Novietnes biodrošības izvērtējums liecināja, ka infrastruktūra kopumā bija labi attīstīta. Novietnes teritorija bija iežogota, visi transportlīdzekļi, kas iebrauca teritorijā, šķērsoja sanitārās kontroles punktus, un darbiniekiem bija pieejams speciāls darba apģērbs un apavi. Tomēr pie ieejām cūku turēšanas telpās nebija ierīkotas sanitārās caurlaides. Epidemioloģiskā izmeklēšana un intervijas atklāja vairākas nepilnības biodrošības prasību īstenošanā. Ģērbtuvju un atpūtas telpu izvietojums nenodrošināja efektīvu tīro un netīro zonu nodalīšanu. Darbiniekiem bija atļauts ienest pārtiku novietnes teritorijā un lietot to ražošanas zonā. Turklāt dokumentācija par transportlīdzekļu dezinfekciju ziemas periodā bija nepilnīga.

Lai izvērtētu iespējamos ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļus, tika izmantota hipotēzēs balstīta epidemioloģiskās izmeklēšanas pieeja. Tika izvērtētas trīs iespējamās vīrusa iekļūšanas hipotēzes: mežacūku hipotēze, gaļas/kontaminētu priekšmetu hipotēze un tirdzniecības hipotēze.

Mežacūku hipotēze tika uzskatīta par maz ticamu, jo cūkas tika turētas slēgtās telpās, novietnes teritorija bija iežogota un netika konstatēta ne tieša, ne netieša saskare ar mežacūkām. Novietnē netika izmantoti pakaiši vai barība, kas varētu būt bijuši kontaktā ar mežacūkām, un neviens no novietnes darbiniekiem nepiedalījās medībās.

Par ticamāko vīrusa iekļūšanas ceļu tika atzīta gaļas/kontaminētu priekšmetu hipotēze. Epidemioloģiskajā izmeklēšanā tika konstatētas nepietiekamas personāla higiēnas barjeras, kā arī iespēja, ka novietnē tika ienesti kontaminēti gaļas produkti, kas vēlāk nonāca cūku turēšanas zonās. Papildus tam iepriekšējo mēnešu laikā novietnē bija vērojama ievērojama darbinieku mainība, kas radīja bažas par informētību attiecībā uz ĀCM ievazāšanas riskiem un biodrošības prasību ievērošanu.

Tirdzniecības hipotēze tika izslēgta, jo iepriekšējo 12 mēnešu laikā novietnē netika ievesta neviena cūka. Tomēr aprēķinātā HRP laikā sivēni no skartās vaislas novietnes tika pārvietoti uz tam pašam īpašniekam piederošu cūku nobarošanas novietni. Vēlāk šajā novietnē tika apstiprināts ĀCM uzliesmojums, kas tika klasificēts kā sekundārs uzliesmojums.

Epidemioloģisko izmeklēšanu laikā Latvijā un vairākās citās ĀCM skartajās Eiropas valstīs tika apkopota un izvērtēta lauksaimnieku, novietņu darbinieku, veterinārārstu un citu novietnes darbībā iesaistīto personu sniegtā informācija un viedokļi par iespējamiem ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļiem. Kopumā epidemioloģiskās nozīmības ziņā tika analizēts 31 apgalvojums par iespējamajiem vīrusa iekļūšanas ceļiem.

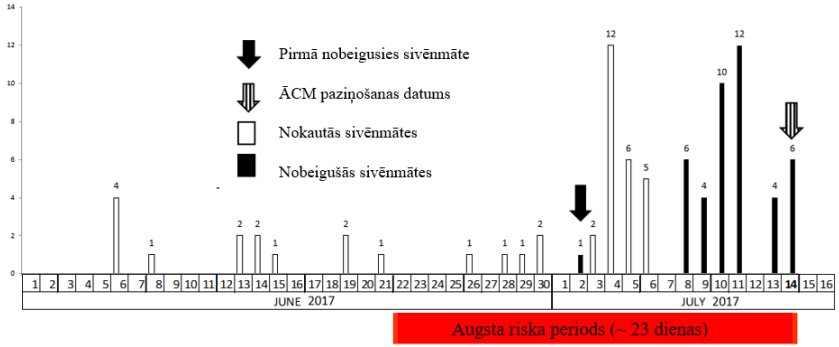
Daudzi no šiem apgalvojumiem tika atzīti par epidemioloģiski nozīmīgiem un prasīja turpmāku izmeklēšanu, savukārt citi tika nekavējoties izslēgti kā maz ticami. Būtiska daļa apgalvojumu (n = 13) tika klasificēti kā maz ticami, bet pilnībā neizslēdzami. Pētījuma rezultāti parādīja, ka šādas subjektīvas informācijas interpretācijai nepieciešamas epidemioloģiskās zināšanas, pieredze uzliesmojumu izmeklēšanā un strukturēta komunikācijas pieeja.

Lai padziļināti izpētītu uzliesmojumu attīstības gaitu, divās citās ĀCM skartās komerciālās cūku novietnēs (A un B novietne) tika veiktas papildu epidemioloģiskās izmeklēšanas, koncentrējoties uz augsta riska perioda (HRP) rekonstrukciju un vīrusa izplatības novērtēšanu skartajās novietnēs.

A novietnē ĀCM tika apstiprināts 2017. gada 14. jūlijā. Novietni veidoja septiņas slēgta tipa kūtis. Smagas klīniskās pazīmes, tostarp drudzis, aborti un vemšana, tika novērotas tikai vienā kūtī, kurā grupās tika turētas grūsnas sivēnmātes. Saskaņā ar anamnēzes datiem pirmā nobeigusies sivēnmāte pēc aborta tika konstatēta jau 2. jūlijā. Laikposmā no 2. jūlija līdz uzliesmojuma apstiprināšanai nobeidzās 43 sivēnmātes. Vēl 25 sivēnmātes veselības problēmu dēļ tika nosūtītas uz kautuvi.

Slimība izplatījās arī uz atnešanās kūti pēc tam, kad no skartās vienības uz to tika pārvietotas inficētas sivēnmātes. Atnešanās vienībā nobeigušās sivēnmātes tika konstatētas 7., 8. un 9. jūlijā.

A novietnē rekonstruētā epidemioloģiski nozīmīgo notikumu laika līnija un novērtētais HRP ir attēloti 4.1. attēlā.

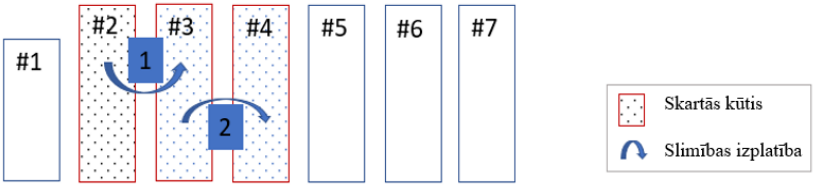


*Jūnijā periodiski tika kautas sivēnmātes, un pastiprināta kaušana novērota no 4.jūlija, bet nav pierādāma saikne ar ĀCM

4.1 attēls. **Epidemioloģiski nozīmīgo notikumu laika līnija saimniecībā A (kūtī Nr. 2) un novērtētais augsta riska periods (HRP)**

A novietnē par indeksgadījumu tika uzskatīta sivēnmāte, kas nobeidzās 2. jūlijā. Pieņemot, ka vidējais izdzīvošanas periods pēc inficēšanās ir aptuveni 10 dienas, tika aprēķināts, ka vīruss novietnē, visticamāk, iekļuva ap 22. jūniju. Tādējādi novērtētais augsta riska periods (HRP) bija aptuveni 23 dienas.

Tika pieņemts, ka līdz uzliesmojuma atklāšanai bija notikuši vairāk nekā divi infekcijas cikli. ĀCM vīrusa iespējamā izplatība starp kūtīm A novietnē ir attēlota 4.2. attēlā.



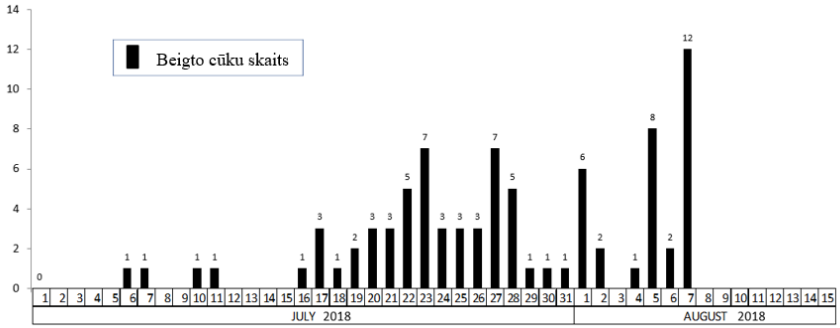
4.2 attēls. **Iespējamā ĀCM vīrusa izplatība starp kūtīm novietnē A**

B novietnē ĀCM tika apstiprināts 2018. gada 31. jūlijā. Novietne sastāvēja no divām ģeogrāfiski atdalītām ražošanas vietām (lokācijām). Uzliesmojuma konstatēšanas laikā novietnē jau bija ieviesta pastiprinātā pasīvā uzraudzība.

Trīs nobeigušies atšķirti sivēni, kas tika konstatēti 29. jūlijā, tika izmeklēti uz ĀCM, un PĶR rezultāti bija pozitīvi. Šie dzīvnieki iepriekš, 23. jūlijā, kopā ar vēl 277 atšķirtiem sivēniem bija pārvietoti no ražošanas vietas B1 uz ražošanas vietu B2.

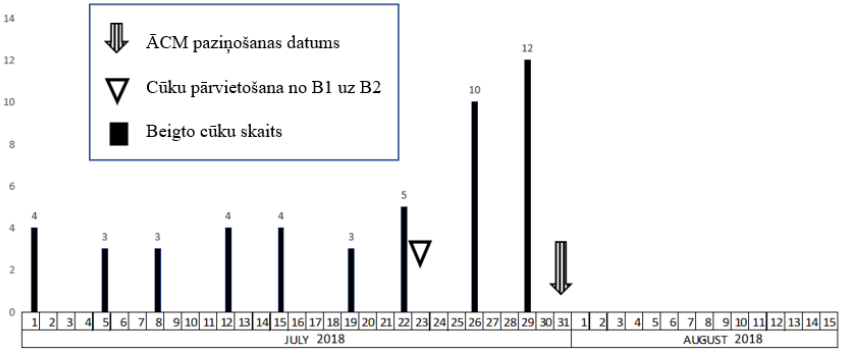
Pēc pārvietošanas ražošanas vietā B2 tika novērota paaugstināta mirstība, savukārt pārējām cūkām izcelsmes vienībā paaugstināta mirstība netika konstatēta. Vienlaikus neliels mirstības pieaugums tika novērots citā kūtī ražošanas vietā B1 jau kopš jūlija vidus.

Mirstības dati no B1 ražošanas vietas 4. kūts, kas tika izmantoti augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcijā, ir attēloti 4.3. attēlā.



4.3 attēls. **Mirstības dinamika kūtī Nr. 4, ražošanas vietā B1**

B2 ražošanas vietā rekonstruētā epidemioloģiski nozīmīgo notikumu laika līnija ir attēlota 4.4. attēlā.

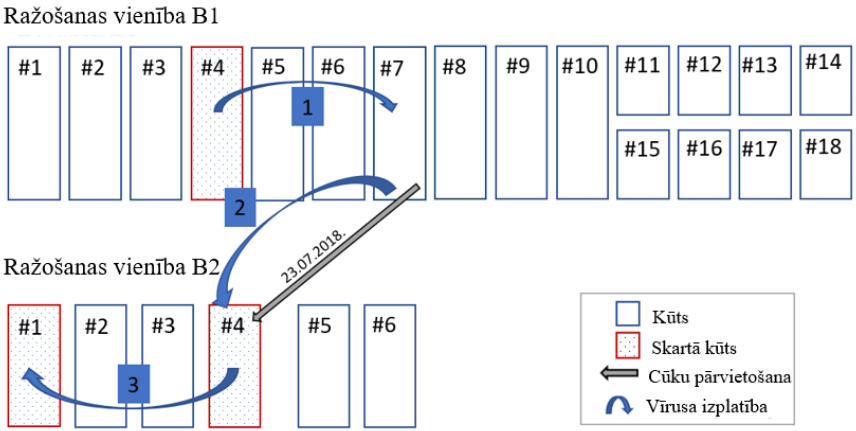


4.4 attēls. **Epidemioloģiski nozīmīgo notikumu laika līnija novietnē, kurā konstatētas pirmās ĀCM pozitīvās cūkas (ražošanas vieta B2)**

B novietnē par indeksgadījumiem tika uzskatīti sivēni, kas tika atrasti nobeigušies 29. jūlijā. Pamatojoties uz virusoloģisko un seroloģisko izmeklējumu rezultātu kombinētu interpretāciju, tika novērtēts, ka augsta riska periods (HRP) bija aptuveni divas nedēļas.

Tā kā cūkām tika konstatēti pozitīvi gan PĶR, gan antivielu noteikšanas rezultāti, tika pieņemts, ka inficēšanās notikusi 7 - 10 dienas pirms dzīvnieku nobeigšanās. Līdz ar to novērtētais HRP bija laikposmā no 18. līdz 31. jūlijam.

ĀCM vīrusa iespējamā izplatība starp kūtīm un ražošanas vietām B novietnē ir attēlota 4.5. attēlā.



4.5 attēls. **Iespējamā ĀCM vīrusa izplatība novietnē B**

Dzīvnieku pārvietošanas uzskaites dati un laboratorisko izmeklējumu rezultāti liecināja, ka infekcija sākotnēji attīstījās B1 ražošanas vietas 4. kūtī un vēlāk izplatījās uz B2 ražošanas vietu, pārvietojot inficētus atšķirtos sivēnus. Savukārt turpmākā infekcijas izplatība starp kūtīm visdrīzāk notika ar kontaminētu priekšmetu starpniecību.

4.2. ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana cūku novietnēs un paraugu ņemšanas stratēģijas

ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana skartajās cūku novietnēs parādīja neviendabīgu infekcijas izplatību starp epidemioloģiskajām vienībām. Lai gan starp dažādām ražošanas vienībām pastāvēja epidemioloģiskas saiknes, vairākās vienībās infekcija netika konstatēta pat ilgstoša augsta riska perioda laikā.

Pēc uzliesmojumu apstiprināšanas A un B novietnēs tika veiktas papildu epidemioloģiskās izmeklēšanas un mērķtiecīga paraugu ņemšana, lai novērtētu ĀCM vīrusa izplatības apmēru skartajās novietnēs. Pirms dzīvnieku likvidēšanas paraugi tika noņemti no cūkām dažādās kūtīs un epidemioloģiskajās vienībās. Iegūtie laboratorisko izmeklējumu rezultāti ļāva identificēt skartās un neskartās vienības novietņu ietvaros.

A novietnē pirms depopulācijas paraugi tika noņemti no cūkām visās septiņās kūtīs. Par epidemioloģiski skartām tika atzītas trīs no septiņām kūtīm. ĀCM vīrusa genoms galvenokārt tika konstatēts kūtīs, kurās tika turētas sivēnmātes, savukārt lielākajā daļā nobarošanas vienību laboratorisko izmeklējumu rezultāti bija negatīvi. Virusoloģisko un seroloģisko izmeklējumu rezultātu sadalījums starp dažādām A novietnes kūtīm ir attēlots 4.1. tabulā.

PĶR un seroloģisko izmeklējumu rezultāti A novietnes cūkām, no kurām paraugi noņemti dažādās kūtīs pirms dzīvnieku likvidēšanas

Kūts numurs	Cūku skaits kūtī	Cūku kategorija	Kūtī noņemto paraugu skaits	Laboratorisko testu rezultāti	
				PĶR pozitīvi	Seroloģiski (ELISA, IPT) pozitīvi
1	213	Kuiļi, sivēnmātes	**3**	0	0
2	301	Sivēnmātes *	4	4	2
3	696	Sivēnmātes **	28	10	0
4	1761	Atšķirtie sivēni	28	1	0
5	1157	Nobarojamās	29	0	0
6	1136	Nobarojamās	28	0	0
7	554	Nobarojamās	20	0	0
Kopā	5818	N/A	140	15	2

* Sivēnmātes grupu aizgaldos ** Sivēnmātes ar sivēniem

Pētījuma rezultāti apliecināja, ka ĀCM vīrusa izplatība novietnēs nenotika vienmērīgi. A novietnē epidemioloģiskā izmeklēšana liecināja, ka infekcija sākotnēji attīstījās 2. kūtī un vēlāk izplatījās uz atnešanās vienību pēc inficētu sivēnmāšu pārvietošanas. Līdzīgi arī B novietnē dzīvnieku pārvietošanas uzskaites dati un laboratorisko izmeklējumu rezultāti liecināja, ka infekcija sākotnēji attīstījās B1 ražošanas vietas 4. kūtī un vēlāk izplatījās uz B2 ražošanas vietu, pārvietojot inficētus atšķirtos sivēnus. Savukārt turpmākā infekcijas izplatība starp kūtīm visdrīzāk notika ar kontaminētu priekšmetu starpniecību.

Neraugoties uz epidemioloģisko saikņu pastāvēšanu starp ražošanas vienībām, vairākas kūtis saglabājās brīvas no infekcijas. ĀCM vīrusa iespējamā izplatība starp ražošanas vienībām A un B novietnēs ir attēlota attiecīgi 4.2. un 4.5. attēlā.

Lai detalizētāk izvērtētu infekcijas izplatības raksturu novietnes ietvaros un uzlabotu infekcijas izplatības novērtēšanu, III pētījumā tika izmantota mērķtiecīga paraugu ņemšanas stratēģija, kuras pamatā bija novietņu sadalīšana epidemioloģiskajās apakšvienībās. Visas pētījumā iekļautās novietnes tika sadalītas epidemioloģiskajās apakšvienībās, kuras pēc tam tika klasificētas atbilstoši ĀCM infekcijas iespējamībai.

Pirms paraugu ņemšanas visās epidemioloģiskajās apakšvienībās tika veikta cūku klīniskā apskate. Epidemioloģisko apakšvienību kategorizācija un tai atbilstošie laboratorisko izmeklējumu rezultāti ir apkopoti 4.2. tabulā.

4.2. tabula

Laboratorisko izmeklējumu rezultātu pārskats atbilstoši novietņu epidemioloģisko apakšvienību kategorijām

Fermas apakš-vienības kategorija	Testēto dzīvnieku skats	Ag-LFD+	PĶR+ Ct<18	PĶR+ Ct>18	Ab-LFD+	ELISA +	IPT +
A NOVIETNE							
1	21	3	2	3	2	2	3
1	6	0	0	0	0	0	0
B NOVIETNE, B1 RAŽOŠANAS VIENĪBA							
1	4	3	3	0	0	0	0
2	11	1	1	4	0	0	1
3	5	1	1	0	0	0	1
B NOVIETNE, B2 RAŽOŠANAS VIENĪBA							
3	15	1	2	4	0	0	4
C NOVIETNE							
1	11	7	7	4	0	0	6
2	4	0	0	0	0	nd	nd
3	1	0	0	0	0	nd	nd
4	18	1	1	1	0	0	0

Mērķtiecīgās paraugu ņemšanas stratēģijas izmantošana ļāva sekmīgi identificēt inficētās epidemioloģiskās vienības skartajās novietnēs. A novietnē inficētas cūkas tika konstatētas vienā epidemioloģiskajā vienībā, savukārt cita epidemioloģiski saistīta vienība saglabājās brīva no ĀCM infekcijas. B novietnē infekcija tika konstatēta abās novietnes vienībās. C novietnē ar ĀCM inficētas cūkas tika identificētas trijās no deviņām epidemioloģiskajām apakšvienībām.

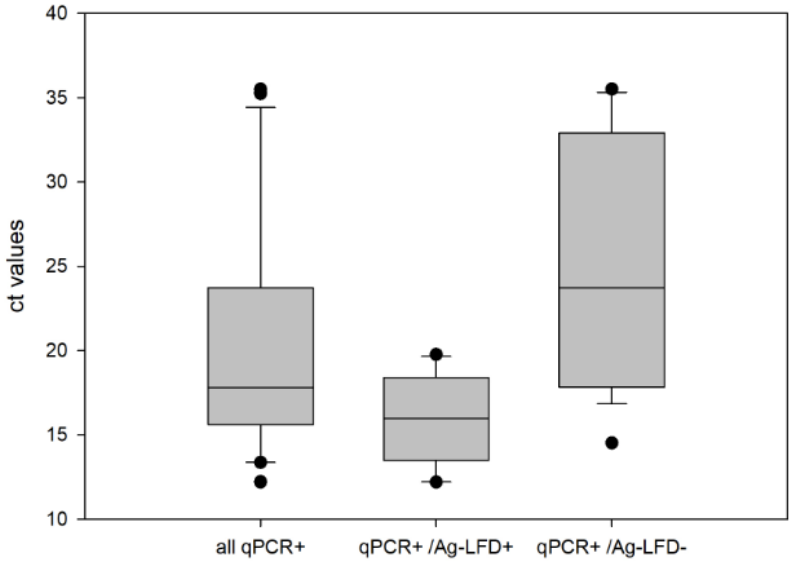
Pētījuma rezultāti arī parādīja, ka mērķtiecīga klīniski slimu un nobeigušos dzīvnieku atlase paraugu ņemšanai ļāva efektīvi identificēt epidemioloģiski skartās vienības. Pat novietnēs ar ilgstošu augsta riska periodu vairākos aizgaldos netika konstatētas ĀCM infekcijas pazīmes.

Lai novērtētu ātro diagnostisko testu pielietojamību uzliesmojumu apstākļos lauka pētījumos, papildus tika izmeklēti 87 dzīvnieki, izmantojot antigēna laterālās plūsmas testus (Ag-LFD), un iegūtie rezultāti tika salīdzināti ar qPĶR rezultātiem. No šiem dzīvniekiem 17 bija pozitīvi Ag-LFD testā, savukārt 34 dzīvniekiem ĀCM vīrusa genoms tika konstatēts ar qPĶR. Visi qPĶR negatīvie

paraugi bija negatīvi arī Ag-LFD testā, kā rezultātā Ag-LFD relatīvais specifiskums bija 100 %. Relatīvā jutība, salīdzinot ar qPĶR, bija 50 % (ticamības intervāls 34,66 %).

Tā kā antivielu pozitīvo paraugu skaits bija neliels, antivielu LFD testu diagnostisko jutību un specifiskumu nebija iespējams aprēķināt.

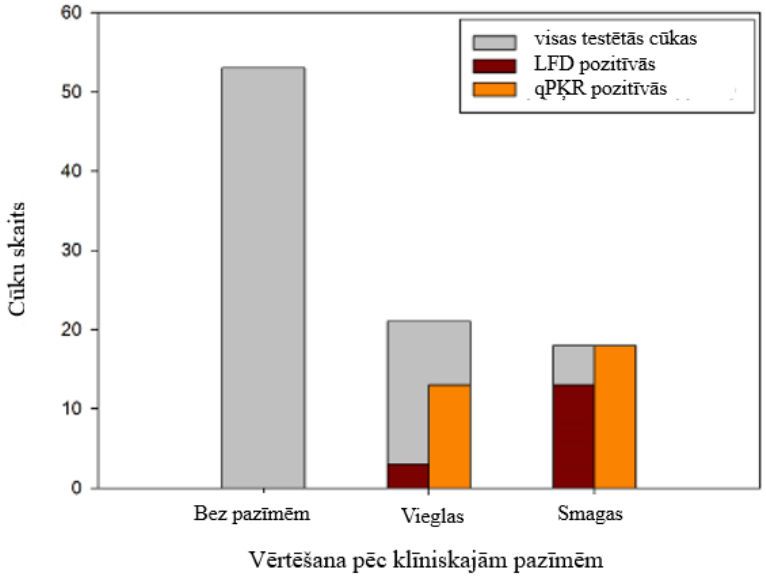
qPĶR Ct vērtību un Ag-LFD pozitīvo rezultātu salīdzinājums ir attēlots 4.6. attēlā. Ag-LFD pozitīvajiem paraugiem Ct vērtības bija robežās no 14 līdz 18, un mediānā Ct vērtība bija 17.



4.6 attēls. **Ct vērtību salīdzinājums visiem izmeklētajiem asins paraugiem, paraugiem ar pozitīviem qPĶR un Ag-LFD rezultātiem, kā arī paraugiem ar pozitīvu qPĶR rezultātu un negatīvu Ag-LFD rezultātu**

Klīnisko pazīmju izvērtējums parādīja, ka ne Ag-LFD, ne qPĶR testos netika iegūti pozitīvi rezultāti cūkām bez klīniskām slimības pazīmēm. Pozitīvi laboratorisko izmeklējumu un Ag-LFD rezultāti tika konstatēti tikai cūkām ar klīniskām slimības pazīmēm.

ĀCM pozitīvo cūku sadalījums atbilstoši klīniskā vērtējuma kategorijām ir attēlots 4.7. attēlā.



4.7 attēls. **Ar ĀCM inficēto cūku (qPĶR, Ag-LFD) sadalījums atbilstoši klīniskā vērtējuma kategorijām**

Korelācijas analīze parādīja statistiski nozīmīgu saistību starp Ag-LFD rezultātiem un klīnisko vērtējumu, starp qPĶR rezultātiem un klīnisko vērtējumu, kā arī starp antivielu LFD un ELISA rezultātiem.

Spīrmena korelācijas analīzes rezultāti ir apkopoti 4.3. tabulā.

4.3. tabula

Spīrmena korelācijas matrica dažādu ĀCM diagnostisko testu rezultātiem un ĀCM klīniskajam vērtējumam

Mainīgie lielumi	Ag-LFD	Ab-LFD	qPĶR	ELISA	IPT	Klīniskais vērtējums
Ag-LFD	**1**	0.008	0.246	0.008	0.271	**0.531**
Ab-LFD	x	**1**	0.065	**1.000**	0.296	0.227
qPĶR	x	x	**1**	0.065	0.218	**0.469**
ELISA	x	x	x	**1**	0.296	0.227
IPT	x	x	x	x	**1**	0.201
Klīniskais vērtējums	x	x	x	x	x	**1**

Treknrakstā attēlotās vērtības ir statistiski nozīmīgi atšķirīgas no 0 pie nozīmības līmeņa $p < 0,05$

4.3. ĀCM uzliesmojumu agrīna atklāšana cūku novietnēs

Pētījuma rezultāti parādīja būtiskas atšķirības uzliesmojumu atklāšanas dinamikā starp izmeklētajām novietnēm un apliecināja, ka ĀCM vīrusa cirkulācija lielās komerciālās cūku novietnēs infekcijas sākumposmā var ilgstoši palikt neatklāta. To apstiprināja trīs pētījumos iekļauto uzliesmojumu izmeklēšanas rezultāti.

2017. gada janvāra uzliesmojuma izmeklēšana parādīja, ka ĀCM vīruss skartajā novietnē bija cirkulējis vairākas nedēļas pirms tā oficiālas apstiprināšanas. Epidemioloģiskā rekonstrukcija liecināja, ka vīruss novietnē bija cirkulējis aptuveni sešas nedēļas pirms uzliesmojuma atklāšanas.

Līdzīga retrospektīva analīze tika veikta A novietnē, kur ĀCM tika oficiāli apstiprināts 2017. gada 14. jūlijā. Retrospektīvā epidemioloģiskā izmeklēšana parādīja, ka klīniskās pazīmes un paaugstināta mirstība bija novērojama jau pirms uzliesmojuma apstiprināšanas. Saskaņā ar anamnēzes un mirstības datiem pirmā nobeigusies sivēnmāte pēc aborta tika konstatēta 2. jūlijā. Turpmākajās dienās tika reģistrēti papildu nobeigušies dzīvnieki un aborti, un inficētās sivēnmātes jau bija pārvietotas starp ražošanas vienībām. Novērtētais augsta riska periods (HRP) A novietnē bija aptuveni 23 dienas.

Izmeklēšana parādīja, ka infekcijas sākumposmā mirstība pieauga lēni un skāra salīdzinoši nelielu dzīvnieku skaitu. Tas apgrūtināja savlaicīgu uzliesmojuma atklāšanu un ļāva vīrusam ilgstoši cirkulēt novietnē pirms tā oficiālas apstiprināšanas.

B novietnē ĀCM tika apstiprināts 2018. gada 31. jūlijā. Trīs nobeigušies atšķirtie sivēni, kas tika konstatēti 29. jūlijā, tika izmeklēti uz ĀCM, un PĶR rezultāti bija pozitīvi. Šie dzīvnieki iepriekš, 23. jūlijā, kopā ar vēl 277 atšķirtiem sivēniem bija pārvietoti no B1 ražošanas vietas uz B2 ražošanas vietu. Uzliesmojuma atklāšanas brīdī novietnē vēl netika novērotas plaši izplatītas klīniskās pazīmes vai izteikts mirstības pieaugums. ĀCM tika identificēts, pateicoties ieviestajai pastiprinātās pasīvās uzraudzības sistēmai, kuras ietvaros katru nedēļu laboratoriski tika izmeklētas nobeigušās cūkas.

B2 ražošanas vietā rekonstruētā epidemioloģiski nozīmīgo notikumu laika līnija ir attēlota 4.3. attēlā, savukārt B1 ražošanas vietas 4. kūtī reģistrētie mirstības dati ir attēloti 4.4. attēlā.

Pētījuma rezultāti parādīja, ka ĀCM uzliesmojumu agrīnajās stadijās lielās komerciālās cūku novietnēs raksturīga lēna vīrusa izplatība un zema mirstība, kas var izraisīt novēlotu uzliesmojuma atklāšanu.

Izmeklēto uzliesmojumu salīdzinājums parādīja, ka sistemātiska nobeigušos cūku laboratoriskā izmeklēšana pastiprinātās pasīvās uzraudzības ietvaros ļauj atklāt ĀCM uzliesmojumus agrīnāk, vēl pirms parādās plaši izplatītas klīniskās pazīmes vai būtiski palielinās mirstība.

4.4. Integrēta epidemioloģiskā pieeja ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā

Izmeklēšanas ietvēra iespējamo ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izvērtēšanu, augsta riska perioda (HRP) rekonstrukciju, vīrusa izplatības novērtēšanu novietnes ietvaros, mērķtiecīgu paraugu ņemšanu, laboratoriskos izmeklējumus, kā arī epidemioloģiski nozīmīgas lauka informācijas apkopošanu.

Lai izvērtētu iespējamos ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļus un noteiktu to ticamību, tika izmantota hipotēzēs balstīta epidemioloģiskās izmeklēšanas pieeja. Uzliesmojumu izmeklēšanas laikā tika apkopota un analizēta arī lauksaimnieku, novietņu darbinieku un citu personu sniegtā informācija un viedokļi, izvērtējot to epidemioloģisko nozīmību.

Augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija tika veikta, izmantojot mirstības datus, klīniskos novērojumus, laboratorisko izmeklējumu rezultātus, dzīvnieku pārvietošanas informāciju un datus par biodrošības pasākumu ievērošanu.

Vīrusa izplatības novērtēšana novietnes ietvaros un mērķtiecīgu paraugu ņemšanas stratēģiju izmantošana ļāva identificēt skartās un neskartās epidemioloģiskās vienības uzliesmojuma skartajās novietnēs. Ātrie diagnostiskie testi uz vietas novietnē (LFD) tika izvērtēti uzliesmojumu apstākļos un salīdzināti ar standarta laboratoriskajām diagnostikas metodēm.

Izmeklēto uzliesmojumu salīdzinājums parādīja atšķirības uzliesmojumu atklāšanas laikā starp novietnēm un apliecināja, ka atsevišķos uzliesmojumos ĀCM vīruss infekcijas sākumposmā cirkulēja neatklāts.

5. DISKUSIJA

5.1. ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana un augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija

Mūsu pētījumi parādīja, ka ar cilvēka darbību saistīti faktori un biodrošības prasību neievērošana bija visdrīzākie ĀCM vīrusa iekļūšanas mehānismi skartajās cūku novietnēs. Turklāt augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija izrādījās būtiska uzliesmojuma attīstības izpratnei un sekundārās infekcijas izplatīšanās risku identificēšanai.

Hipotēze par vīrusa iekļūšanu ar kontaminētu priekšmetu vai kontaminētu gaļas produktu starpniecību tika atzīta par ticamāko infekcijas ievazāšanas ceļu, jo infekciozs materiāls novietnē varēja nonākt ar darbinieku vai apmeklētāju starpniecību. Šie rezultāti uzsver nepieciešamību uzturēt augstu informētības līmeni par slimības izplatīšanās riskiem un biodrošības pasākumu nozīmi dažādās cūkkopībā iesaistītajās mērķgrupās. Tādēļ ar cilvēka darbību saistītajiem riska faktoriem jāpievērš pastāvīga uzmanība ĀCM profilakses stratēģijās. Mūsu pētījumi apstiprināja, ka nepietiekama biodrošība joprojām ir viens no galvenajiem ĀCM ievazāšanas riska faktoriem cūku novietnēs, kā arī parādīja, ka strukturēta, hipotēzēs balstīta epidemioloģiskā pieeja nodrošina lietderīgu metodoloģisko ietvaru uzliesmojumu izmeklēšanai.

Par visefektīvāko līdzekli ĀCM vīrusa iekļūšanas novēršanai cūku novietnēs tiek uzskatīta laba biodrošības prakse (Bellini et al., 2016). Pēc pirmo ĀCM gadījumu konstatēšanas mežacūku populācijā un mājas cūkām Latvijā 2014. gadā biodrošības prasības cūku novietnēs pakāpeniski tika pastiprinātas. Tomēr praktiskā pieredze liecināja, ka biodrošības pasākumu ieviešana daudziem cūku audzētājiem bija būtisks izaicinājums, īpaši mazajās saimniecībās un piemājas novietnēs, kur biodrošības pasākumi iepriekš netika sistemātiski īstenoti. Papildus finanšu ieguldījumiem infrastruktūrā, aprīkojumā un novietņu norobežošanā ("hardware"), efektīva biodrošība prasa arī atbilstošu pārvaldības procedūru ("software") ieviešanu, tostarp higiēnas pasākumu ievērošanu, iekšējo darba procesu organizēšanu, personāla informētību un ikdienas procedūru ievērošanu. Mūsu novērojumi liecināja, ka tieši "software" komponente rada lielākos ilgtermiņa izaicinājumus, jo informētības uzturēšana un ierastu paradumu maiņa prasa nepārtrauktu izglītošanu, uzraudzību un iesaisti.

ĀCM uzliesmojuma gadījumā epidemioloģiskās izmeklēšanas galvenais uzdevums ir noteikt visticamāko vīrusa iekļūšanas ceļu novietnē. Šādas izmeklēšanas prasa visaptverošu novietnes sistēmas izvērtēšanu, tostarp ēku, transportlīdzekļu, aprīkojuma, nožogojuma, dzīvnieku pārvietošanas, personāla kustības un biodrošības procedūru analīzi. Papildus biodrošības izvērtējumam epidemioloģiskajās izmeklēšanās bieži tiek izmantota arī netieša epidemioloģiskā informācija, tostarp novietnes darbībā iesaistīto personu novērojumi un viedokļi.

Atsevišķi tika detalizētāk analizēta uzliesmojumu izmeklēšanas laikā no nespeciālistiem iegūtā informācija. Lauksaimnieki, novietņu darbinieki, zootehniķi un veterinārārsti bieži tiek intervēti, lai noskaidrotu viņu viedokli par iespējamiem vīrusa iekļūšanas ceļiem un iespējamo infekcijas ievazāšanas laiku. Lai gan šīm personām ne vienmēr ir padziļinātas zināšanas epidemioloģijā vai par ĀCM, viņu novērojumi un pieņēmumi var sniegt vērtīgu kontekstuālu informāciju. Tādēļ uzliesmojumu izmeklēšanas laikā iegūtie apgalvojumi tika izvērtēti atbilstoši to iespējamajai epidemioloģiskajai nozīmībai un nepieciešamībai veikt turpmāku izmeklēšanu.

Tomēr šādas subjektīvas informācijas interpretācija bieži ir sarežģīta un prasa rūpīgu izvērtēšanu kontekstā ar klīniskajiem novērojumiem, biodrošības novērtējumu, laboratorisko izmeklējumu rezultātiem un citiem epidemioloģiskajiem datiem. Daži apgalvojumi var šķist izteikti spekulatīvi vai sākotnēji mazvērtīgi, savukārt citi var sniegt nozīmīgas epidemioloģiskas norādes. Atsevišķos gadījumos var tikt iegūta arī anekdotiska vai maldinoša informācija (Trotta et al., 2022). Turklāt novietņu pārstāvji var nevēlēties apspriest iespējamas nepilnības biodrošības prasību ievērošanā, baidoties no juridiskas atbildības par uzliesmojuma izcelsmi. Šie novērojumi uzsver apmācītu izmeklētāju nozīmi, kuriem ir zināšanas par ĀCM epidemioloģiju, komunikācijas prasmes un izpratne par normatīvo aktu prasībām. Strukturētu aptaujas anketu un sistemātisku intervēšanas pieeju izmantošana var uzlabot epidemioloģiskajās izmeklēšanās iegūtās informācijas kvalitāti un salīdzināmību. Lielākā daļa izmeklēšanas laikā iegūto apgalvojumu bija saistīti ar cilvēku darbībām, īpaši mazajās saimniecībās, vēlreiz apliecinot cilvēka faktora centrālo lomu ĀCM izplatībā (Zani et al., 2019; Ardelean et al., 2021).

Lai gan vīrusa iekļūšanas ceļa noteikšana ir būtiska uzliesmojuma izmeklēšanas sastāvdaļa, ne mazāk svarīgi ir noskaidrot, cik ilgi vīruss ir cirkulējis novietnē. Šī informācija ir nepieciešama, lai novērtētu iespējamās izplatības apmēru un sekundārās infekcijas izplatīšanās risku. Tādēļ augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija ir būtiska epidemioloģiskās izmeklēšanas analītiskā sastāvdaļa.

Mūsu pētījumi parādīja, ka ĀCM uzliesmojumi lielās komerciālās cūku novietnēs var ilgstoši palikt neatklāti un ka līdz slimības aizdomu rašanās brīdim un laboratoriskai apstiprināšanai bieži ir noticis vairāk nekā viens infekcijas cikls. Šie rezultāti uzsver nepieciešamību skaidri nošķirt inkubācijas periodu no augsta riska perioda (HRP), jo praksē šie jēdzieni nereti tiek sajaukti pat veterinārmedicīnas speciālistu vidū. ĀCM gadījumā, īpaši lielās komerciālās novietnēs, pirms klīnisku aizdomu rašanās var noritēt vairāki secīgi infekcijas cikli.

Pētījumi parādīja, ka uzliesmojumu sākumposmā nobeidzās tikai daži dzīvnieki, bet mirstība pakāpeniski pieauga turpmāko nedēļu laikā. Šis novērojums liecina, ka ĀCM transmisija lielās cūku novietnēs sākotnēji notiek salīdzinoši lēni. Infekcijas sākumposmā inficējas tikai neliels dzīvnieku skaits, un ir nepieciešams laiks, līdz vidē uzkrājas pietiekams vīrusa daudzums, lai

nodrošinātu plašāku infekcijas izplatīšanos novietnē. Efektīva transmisija notiek brīdī, kad inficētās cūkas sāk asiņot, abortēt vai nobeidzas, tādējādi pakļaujot uzņēmīgās cūkas saskarei ar asinīm un citiem infekcioziem izdalījumiem (Pietschmann et al., 2015). Eksperimentālie pētījumi ar II genotipa ĀCM vīrusu ir parādījuši, ka viens infekcijas cikls - no inficēšanās līdz dzīvnieka nobeigšanās brīdim - ilgst aptuveni 10 dienas (Guinat et al., 2016; Pietschmann et al., 2015; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013).

Lauka novērojumi Latvijā un eksperimentālie pētījumi papildus parādīja, ka ĀCM lipīgums ir zemāks, nekā bieži tiek pieņemts (Pietschmann et al., 2015). Latvijā 2014. gadā tika izmeklēti 32 ĀCM uzliesmojumi. Divpadsmit novietnēs visas cūkas vēl bija dzīvas brīdī, kad ieradās oficiālie veterinārārsti, savukārt 20 novietnēs viena vai vairākas cūkas jau bija nobeigušās. Tomēr laboratoriskie izmeklējumi parādīja, ka klīniski veselās cūkas, kas atradās tajā pašā aizgaldā vai kūtī, bieži vēl nebija inficējušās ar ĀCM vīrusu (Oļševskis et al., 2016). Šie rezultāti liecina, ka starp atsevišķu dzīvnieku inficēšanos var pastāvēt ievērojamas laika nobīdes un ka infekcijas pārnešana citām cūkām bieži notiek tikai pēc inficēto dzīvnieku nobeigšanās.

HRP rekonstrukcijai izstrādātā metodoloģija un ar to saistītā analītiskā pieeja ir aprakstīta I un II pētījumā. Lai rekonstruētu iespējamo infekcijas attīstības gaitu novietnēs, tika izveidotas epidemioloģisko notikumu laika līnijas. Tika apkopoti un analizēti dažādi epidemioloģiski nozīmīgi dati, tostarp anamnēzes informācija, saslimstības un mirstības dati, pēcnāves izmeklēšanas rezultāti, laboratorisko izmeklējumu dati, cūku pārvietošanas uzskaite novietnes ietvaros, kūtsmēslu izvešanas dati un ar biodrošību saistīti novērojumi. Īpaša uzmanība tika pievērsta ar personālu saistītajiem riska faktoriem, tostarp higiēnas paradumiem, pārtikas lietošanai novietnē, informētībai par slimības izplatīšanās riskiem un transportlīdzekļu kustībai. Izmeklēšanās identificētie riska faktori tika integrēti analītiskajās laika līnijās.

Izstrādātā pieeja izrādījās noderīga sistemātiskai HRP novērtēšanai un sniedza būtisku praktisku ieguldījumu uzliesmojumu pārvaldībā. HRP rekonstrukcija ļāva kompetentajai iestādei izsekot iespējamos sekundāros uzliesmojumus, uzraudzīt to cūku veselības stāvokli, kuras HRP laikā tika pārvietotas uz citām novietnēm vai kautuvēm, kā arī identificēt potenciāli kontaminētus gaļas produktus, kurus bija nepieciešams atsaukt no aprites. Tomēr HRP rekonstrukcija viena pati nesniedz pilnīgu izpratni par uzliesmojuma attīstības dinamiku. Lai atbalstītu operatīvu lēmumu pieņemšanu, nepieciešams novērtēt arī infekcijas izplatību skartajā novietnē.

5.2. ĀCM vīrusa izplatības novērtēšana cūku novietnēs un paraugu ņemšanas stratēģijas

Mūsu pētījumi parādīja, ka ĀCM izplatība lielās komerciālās cūku novietnēs bieži ir neviendabīga un ka atsevišķas epidemioloģiskās vienības var saglabāties neskartas pat ilgstoša augsta riska perioda (HRP) laikā. Šis novērojums uzsvēra nepieciešamību izmantot mērķtiecīgas paraugu ņemšanas stratēģijas, lai precīzi novērtētu vīrusa izplatību novietnes ietvaros.

Vīrusa izplatības novērtēšana skartajās novietnēs ir būtiska ne tikai uzliesmojuma attīstības izpratnei, bet arī atbilstošu slimības kontroles pasākumu plānošanai un īstenošanai. Lai gan starp dažādām novietnes vienībām parasti pastāv epidemioloģiskas saiknes, ko nosaka cūku audzēšanas tehnoloģija un kopīgas pārvaldības procedūras, ne visas epidemioloģiskās vienības obligāti kļūst inficētas. Mūsu pētījumi parādīja, ka pat ilgstoša HRP laikā atsevišķi aizgaldi vai novietnes sektori var saglabāties neskarti. Šie rezultāti liecina, ka ĀCM izplatība lielās komerciālās novietnēs nenotiek vienmērīgi un seko noteiktiem transmisijas modeļiem.

Detalizēta izpratne par infekcijas izplatību novietnes ietvaros ļauj prioritizēt un koordinēt slimības kontroles pasākumus, tostarp mērķtiecīgi plānot dzīvnieku likvidēšanu, sākot ar visvairāk skartajām vienībām. Turklāt detalizēts infekcijas izplatības epidemioloģiskais novērtējums var palīdzēt pielāgot slimības kontroles pasākumus konkrētajai uzliesmojuma situācijai, īpaši gadījumos, kad normatīvais regulējums pieļauj atkāpes no pilnīgas novietnes depopulācijas (EC, 2019).

Arī turēšanas sistēma un dzīvnieku pārvaldības prakse var ietekmēt infekcijas izplatības dinamiku novietnē. Ja cūkas tiek turētas lielākās grupās, vīrusa izplatība parasti notiek straujāk nekā sistēmās, kur dzīvnieki tiek turēti individuāli vai nelielās grupās. Tādēļ epidemioloģisko saikņu, dzīvnieku pārvietošanas, novietnes struktūras un pārvaldības procedūru izvērtēšana ir būtiska, lai izprastu transmisijas ceļus skartajās novietnēs.

Pēc epidemioloģisko vienību un iespējamo transmisijas ceļu identificēšanas šie secinājumi jāapstiprina ar atbilstošu diagnostisko paraugu ņemšanas stratēģiju. Šādai stratēģijai jābūt saskaņotai gan ar rekonstruētajiem transmisijas modeļiem, gan ar ĀCM infekcijas epidemioloģiskajām īpatnībām.

Pirms III pētījumā aprakstītās mērķtiecīgās pieejas izstrādes normatīvie akti paredzēja nejauši izvēlētu asins paraugu ņemšanu dzīvnieku likvidēšanas laikā virusoloģiskajiem un seroloģiskajiem izmeklējumiem. Minimālais paraugu skaits bija noteikts tā, lai katrā epidemioloģiskajā apakšvienībā ar 95 % ticamības līmeni būtu iespējams konstatēt 10 % seroprevalenci (EC, 2003). Tomēr, ņemot vērā, ka Eiropā cirkulēja augsti virulenti ĀCM vīrusa celmi, šāda nejauša uzraudzības pieeja kļuva mazāk piemērota aktīvas vīrusa cirkulācijas novērtēšanai (EFSA, 2021). Tā kā virulenta ĀCM infekcija vairumam inficēto cūku izraisa nobeigšanos, uzraudzības stratēģijām galvenokārt jābūt vērstām uz

vīrusa noteikšanu klīniski slimām un nobeigušām cūkām (Blome et al., 2020; Busch et al., 2021). Vienlaikus seroloģiskie izmeklējumi joprojām var sniegt vērtīgu epidemioloģisko informāciju par vīrusa cirkulācijas ilgumu novietnē.

III pētījumam bija divi mērķi. Pirmais bija izstrādāt mērķtiecīgu un efektīvu paraugu ņemšanas stratēģiju ĀCM skartajām novietnēm, bet otrais – novērtēt laterālās plūsmas testu (LFD) piemērotību lauka apstākļos, salīdzinot tos ar standarta laboratoriskajām metodēm, tostarp PĶR, ELISA un IPT. Līdz tam LFD testi galvenokārt bija novērtēti eksperimentālos apstākļos, nevis reālu ĀCM uzliesmojumu laikā novietnēs.

Pētījuma pamatā bija pieņēmums, ka ar ĀCM inficēti dzīvnieki visdrīzāk tiks identificēti starp klīniski slimajiem dzīvniekiem un ka LFD testi varētu palīdzēt tos ātri identificēt lauka apstākļos. Mūsu rezultāti parādīja, ka zemākas jutības dēļ salīdzinājumā ar standarta laboratoriskajām metodēm LFD testi nevar aizstāt laboratorisko apstiprināšanu un nav piemēroti slimības neesamības pierādīšanai. Tomēr tie izrādījās noderīgi kā papildinošs lauka diagnostikas instruments jau apstiprinātu ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā, īpaši klīniski aizdomīgu un nobeigušos cūku izmeklēšanā.

Tomēr III pētījuma galvenais mērķis bija izstrādāt uzticamu paraugu ņemšanas stratēģiju, kas ļautu novērtēt vīrusa izplatību skartajās novietnēs. Mēs izstrādājām praktisku pieeju novietņu sadalīšanai epidemioloģiskajās vienībās un to klasificēšanai atbilstoši ĀCM vīrusa cirkulācijas iespējamībai. Mērķtiecīga paraugu ņemšana tika vērsta uz klīniski slimajiem un nobeigušajiem dzīvniekiem, kā arī cūkām, kas atradās ciešā kontaktā ar inficētiem dzīvniekiem. Mūsu rezultāti parādīja, ka mērķtiecīga klīniski slimu un nobeigušos cūku izmeklēšana ir ļoti efektīva, lai identificētu inficētās epidemioloģiskās vienības un novērtētu aktīvu vīrusa cirkulāciju skartajās novietnēs.

Tādējādi piedāvātā pieeja nodrošina strukturētu epidemioloģisko instrumentu ĀCM izplatības novērtēšanai komerciālās cūku novietnēs un veicina uz pierādījumiem balstītu uzliesmojumu pārvaldību. Tomēr, lai gan mērķtiecīga paraugu ņemšana uzlabo uzliesmojumu izmeklēšanu pēc slimības apstiprināšanas, ilgstošas neatklātas vīrusa cirkulācijas novēršanai nepieciešamas tikpat efektīvas agrīnās atklāšanas sistēmas. Tādēļ uzraudzības stratēģijas, kuru mērķis ir saīsināt HRP, joprojām ir būtiska ĀCM kontroles sastāvdaļa.

5.3. ĀCM uzliesmojumu agrīna atklāšana cūku novietnēs

Pētījumi parādīja, ka pastiprinātā pasīvā uzraudzība būtiski uzlabo ĀCM uzliesmojumu agrīnu atklāšanu un saīsina augsta riska periodu (HRP) skartajās cūku novietnēs. II pētījums, kurā tika analizētas divas uzliesmojuma skartas novietnes - viena 2017. gadā un otra 2018. gadā, skaidri parādīja pastiprinātas uzraudzības pieejas nozīmi. Vienā no novietnēm pastiprinātā pasīvā uzraudzība

vēl netika piemērota, jo uzliesmojums notika pirms šīs sistēmas ieviešanas. Rezultātā ĀCM tika atklāts ar novēlošanos. Savukārt otrajā novietnē slimība tika konstatēta ievērojami agrāk, pateicoties ieviestajai pastiprinātajai pasīvajai uzraudzībai. Lai gan mirstības līmenis sākotnēji neradīja aizdomas par ĀCM, slimība tika atklāta, jo nobeigušās cūkas tika sistemātiski izmeklētas uz ĀCM.

Agrīna slimības atklāšana ir būtiska, lai samazinātu HRP un ierobežotu turpmākas vīrusa izplatīšanās iespējas gan novietnes ietvaros, gan starp dažādām novietnēm. Tomēr laikā, kad 2017. gadā tika veikts I pētījums, nepastāvēja specifiskas normatīvo aktu prasības attiecībā uz ĀCM agrīnu atklāšanu cūku novietnēs. Turklāt praktiskās epidemioloģiskās zināšanas par ĀCM vīrusa uzvedību pēc tā iekļūšanas komerciālās cūku novietnēs vēl bija ierobežotas. Tajā laikā agrīnas ĀCM atklāšanas uzraudzības procedūras galvenokārt balstījās uz aktīvo uzraudzību un attiecīgajā periodā spēkā esošo ĀCM diagnostikas rokasgrāmatu.

I pētījuma rezultāti veicināja labāku izpratni par ĀCM uzliesmojumu attīstības dinamiku lielās komerciālās cūku novietnēs, īpaši parādot, ka zemas sākotnējās mirstības dēļ ĀCM vīrusa cirkulācija var ilgstoši palikt neatklāta. Šie novērojumi atklāja ierobežojumus uzraudzības pieejām, kas galvenokārt balstās uz klīniskās apskates rezultātiem un vispārējiem mirstības rādītājiem. Pēc šo secinājumu paziņošanas Eiropas Komisijai lielāka uzmanība ĀCM uzraudzības stratēģijās tika pievērsta pastiprinātajai pasīvajai uzraudzībai, īpaši sistemātiskai nobeigušos un klīniski slimu cūku izmeklēšanai. Turpmāk gan Latvijā, gan Eiropas Savienības līmenī uzraudzības pieejas tika pilnveidotas, un pastiprinātā pasīvā uzraudzība kļuva par būtisku ĀCM agrīnas atklāšanas stratēģiju sastāvdaļu (EC, 2014; EC, 2018).

Šajā promocijas darbā iegūtie rezultāti apstiprina šīs pieejas epidemioloģisko nozīmi un parāda, ka sistemātiska nobeigušos cūku laboratoriskā izmeklēšana ir praktiska un epidemioloģiski pamatota metode ĀCM agrīnas atklāšanas uzlabošanai un HRP saīsināšanai.

5.4. Integrēts epidemioloģiskais ietvars ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanai un kontrolei

Pētījuma rezultāti parādīja, ka efektīvai ĀCM kontrolei novietnes līmenī ir nepieciešams integrēts epidemioloģiskais ietvars, kas apvieno profilaksi, agrīnu slimības atklāšanu, strukturētu uzliesmojumu izmeklēšanu un uz pierādījumiem balstītu lēmumu pieņemšanu.

ĀCM joprojām ir viena no prioritārajām infekcijas slimībām Latvijā, kur nepārtraukta vīrusa cirkulācija mežacūku populācijā uztur pastāvīgu infekcijas risku mājas cūku novietnēm. Laika un telpas analīzes ir parādījušas būtiskas atšķirības ĀCM izplatībā mežacūku populācijā pa gadiem un reģionos (Oļševskis et al., 2020; BIOR, 2022). Tādējādi mežacūkas darbojas kā ilgtermiņa infekcijas

rezervuārs, veidojot pastāvīgu epidemioloģisko saikni starp savvaļas dzīvnieku populāciju un mājas cūku audzēšanas sistēmām.

Šādos epidemioloģiskajos apstākļos šajā darbā iegūtie rezultāti parāda, ka ĀCM kontrole novietnes līmenī nevar balstīties uz vienu atsevišķu pasākumu, bet tai nepieciešama vairāku savstarpēji papildinošu epidemioloģisko komponentu integrācija.

Pirmkārt, vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana parādīja, ka izšķirošais faktors vīrusa ievazāšanā nav tikai novietnes infrastruktūra, bet gan mijiedarbība starp tehniskajiem biodrošības risinājumiem un cilvēku rīcību. Lai gan fiziskās barjeras samazina tieša kontakta iespējamību ar mežacūkām, ar cilvēka darbību saistītie transmisijas ceļi, īpaši tie, kas saistīti ar pārtikas apriti, personāla pārvietošanos un biodrošības procedūru neievērošanu, joprojām ir galvenie ĀCM ievazāšanas riska faktori. Tas apstiprina, ka ĀCM epidemioloģiju mājas cūku populācijā būtiski ietekmē antropogēnie faktori, kas atbilst arī citu Eiropas pētījumu secinājumiem (Zani et al., 2019; Ardelean et al., 2021). Turklāt I pētījumā izmantotā strukturētā, hipotēzēs balstītā izmeklēšanas pieeja nodrošina metodoloģisku ietvaru, kas samazina subjektivitāti un palielina uzliesmojumu izmeklēšanas caurskatāmību.

Otrkārt, augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija parādīja rekonstruktīvās epidemioloģijas nozīmi uzliesmojumu kontrolē. ĀCM uzliesmojumi lielās komerciālās cūku novietnēs var ietvert vairākus infekcijas ciklus pirms slimības atklāšanas, ko apstiprina gan lauka novērojumi, gan eksperimentālie pētījumi ar II genotipa ĀCM vīrusu (Guinat et al., 2016; Pietschmann et al., 2015; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013). Šajā darbā izstrādātā uz laika līnijām balstītā analītiskā pieeja integrē klīniskos, laboratoriskos, pārvaldības un biodrošības datus vienotā epidemioloģiskā sistēmā. Tādējādi HRP novērtēšana kļūst ne tikai par aprakstošu darbību, bet arī par praktisku analītisku instrumentu sekundāro uzliesmojumu izsekošanai un turpmākās infekcijas izplatīšanās risku izvērtēšanai.

Treškārt, vīrusa izplatības novērtēšana novietnes ietvaros parādīja, ka infekcijas dinamiku būtiski ietekmē iekšējie kontakti, dzīvnieku pārvietošanas plūsmas un turēšanas sistēmas. Lai gan starp dažādām novietnes vienībām bieži pastāv epidemioloģiska saikne, infekcija neizplatās vienmērīgi visā novietnē. Šim novērojumam ir būtiska nozīme uz risku balstītu slimības kontroles stratēģiju plānošanā un kontroles pasākumu prioritizēšanā. Tas arī apliecina, ka ĀCM izplatība intensīvās cūkkopības sistēmās seko identificējamiem transmisijas modeļiem, kurus iespējams rekonstruēt un epidemioloģiski analizēt.

Ceturtkārt, mērķtiecīga paraugu ņemšanas stratēģijas izstrāde ļāva pielāgot diagnostikas pieeju augsti virulentu ĀCM vīrusa celmu epidemioloģiskajām īpatnībām. Ņemot vērā II genotipa ĀCM vīrusa izraisīto augsto letalitāti (>90 %) (Guinat et al., 2016; Gabriel et al., 2011; Blome et al., 2013), klīniski slimu un nobeigušos cūku mērķtiecīga izmeklēšana ir epidemioloģiski piemērotāka nekā nejauša seroloģiskā vai virusoloģiskā paraugu ņemšana aktīvas vīrusa cirkulācijas novērtēšanai. Novietņu sadalīšana epidemioloģiskajās vienībās un to

klasificēšana atbilstoši infekcijas riskam nodrošina strukturētu lēmumu pieņemšanas atbalsta instrumentu uzliesmojumu kontrolē. Lai gan laterālās plūsmas testi (LFD) nevar aizstāt laboratorisko apstiprināšanu, to stratēģiska izmantošana lauka apstākļos var uzlabot izmeklēšanas operatīvo efektivitāti.

Visbeidzot, pāreja no aktīvās uzraudzības uz pastiprināto pasīvo uzraudzību ir nozīmīga paradigmas maiņa ĀCM kontroles jomā (EC, 2014; EC, 2018). I un II pētījuma rezultāti parādīja, ka paļaušanās tikai uz vispārējiem mirstības rādītājiem nav pietiekama agrīnai uzliesmojumu atklāšanai. Savukārt sistemātiska nobeigušos cūku izmeklēšana ir epidemioloģiski pamatota un praktiski īstenojama pieeja, kas uzlabo ĀCM agrīnu atklāšanu un saīsina HRP.

Kopumā šajā promocijas darbā ietvertie pētījumi veido integrētu epidemioloģisko modeli ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanai un kontrolei novietnes līmenī. Modelis sastāv no pieciem savstarpēji saistītiem komponentiem: strukturētas vīrusa iekļūšanas ceļu izvērtēšanas, analītiskas HRP rekonstrukcijas, infekcijas izplatības noteikšanas novietnes ietvaros, uz risku balstītas mērķtiecīgas paraugu ņemšanas stratēģijas un agrīnas atklāšanas stiprināšanas, izmantojot pastiprināto pasīvo uzraudzību.

Šie komponenti ir cieši savstarpēji saistīti. Precīza HRP rekonstrukcija uzlabo izsekošanas pasākumu efektivitāti, mērķtiecīga paraugu ņemšana palīdz precizēt infekcijas izplatību, savukārt strukturēta ar cilvēka darbību saistīto vīrusa iekļūšanas ceļu izmeklēšana stiprina preventīvos biodrošības pasākumus. Šī integrētā ietvara centrā atrodas cilvēka faktors - informētība, prasību ievērošana, komunikācija un lēmumu pieņemšana.

Tādēļ efektīva ĀCM kontrole prasa ne tikai normatīvo prasību ievērošanu un laboratorisko kapacitāti, bet arī ilgtermiņa ieguldījumus uzvedības biodrošībā, strukturētā epidemioloģiskajā apmācībā un sistemātiskās izmeklēšanas metodēs. Šajā promocijas darbā izstrādātās metodoloģiskās pieejas veicina šādas kapacitātes stiprināšanu un nodrošina ietvaru, kas ir piemērojams arī ārpus Latvijas.

Kopumā šis darbs parāda, ka ĀCM uzliesmojumu pārvaldība nav tikai patogēna noteikšana, bet gan daudzdisciplinārs epidemioloģisks process, kas vienotā slimības kontroles stratēģijā apvieno slimības epidemioloģiju, novietņu pārvaldības sistēmas, cilvēku uzvedību un normatīvo regulējumu.

SECINĀJUMI

1) ĀCM komerciālās cūku novietnēs sākotnēji var izplatīties lēni un neviendabīgi, ļaujot infekcijai ilgstoši palikt neatklātai. Šie rezultāti parāda, ka uzliesmojumu agrīna atklāšana nevar balstīties tikai uz mirstības pieauguma rādītājiem vai klīniskām aizdomām, un prasa sistemātisku uzraudzības pieeju.

2) Augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcija ir būtiska epidemioloģiskās izmeklēšanas sastāvdaļa, kas ļauj identificēt iespējamos vīrusa iekļūšanas notikumus, izvērtēt izplatīšanās ceļus un pilnveidot izsekošanas un uzliesmojumu kontroles pasākumus.

3) Strukturēta, hipotēzēs balstīta epidemioloģiskā izmeklēšana nodrošina sistemātisku pieeju iespējamo ĀCM vīrusa iekļūšanas ceļu izvērtēšanai un ļauj izslēgt maz ticamus vīrusa iekļūšanas ceļus.

4) Vīrusa izplatības novērtēšana novietnes ietvaros parādīja, ka ĀCM neizplatās vienmērīgi starp ražošanas vienībām. Epidemioloģisko vienību identificēšana un mērķtiecīgu paraugu ņemšanas stratēģijas izmantošana ir būtiska, lai ticami novērtētu infekcijas izplatību skartajās novietnēs. Ātro diagnostisko testu izmantošanas izvērtējums lauka apstākļos apliecināja to praktisko nozīmi kā papildinošu instrumentu epidemioloģiskajā izmeklēšanā līdztekus standarta laboratoriskajām metodēm.

5) Pastiprinātā pasīvā uzraudzība, kas balstīta uz sistemātisku nobeigušos cūku laboratorisko izmeklēšanu, būtiski uzlabo ĀCM uzliesmojumu agrīnu atklāšanu un veicina HRP saīsināšanu, tādējādi samazinot turpmākas slimības izplatīšanās risku.

6) Epidemioloģiskā izmeklēšana, kas apvieno strukturētu datu apkopošanu, profesionālu lauka informācijas interpretāciju un mērķtiecīgu diagnostisko apstiprināšanu, nodrošina pierādījumus slimības kontroles un pārvaldības pasākumu pielāgošanai konkrētajai uzliesmojuma situācijai, tostarp izvērtējot iespēju piemērot atkāpes no pilnīgas depopulācijas.

7) Pētījuma rezultāti ļāva izstrādāt strukturētu ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanas ietvaru, kas apvieno agrīnu slimības atklāšanu, HRP rekonstrukciju, hipotēzēs balstītu epidemioloģisko izmeklēšanu un mērķtiecīgu diagnostiku.

REKOMENDĀCIJAS

1) Pastiprinātā pasīvā uzraudzība, kas balstīta uz sistemātisku nobeigušos cūku laboratorisko izmeklēšanu, būtu konsekventi jāpiemēro un jāuztur komerciālajās cūku novietnēs, jo tā uzlabo ĀCM uzliesmojumu agrīnu atklāšanu un veicina neatklātas infekcijas perioda saīsināšanu.

2) ĀCM uzliesmojumu izmeklēšanā būtu jāizmanto strukturēta augsta riska perioda (HRP) rekonstrukcijas pieeja, integrējot epidemioloģiskos, klīniskos, laboratoriskos, mirstības un dzīvnieku pārvietošanas datus, lai atbalstītu vīrusa iekļūšanas notikumu identificēšanu, transmisijas ceļu izvērtēšanu un lēmumu pieņemšanu uzliesmojumu pārvaldībā.

3) ĀCM uzliesmojumu epidemioloģiskajai izmeklēšanai būtu jābalstās uz integrētu, hipotēzēs balstītu epidemioloģiskās izmeklēšanas ietvaru, kas ietver strukturētu datu apkopošanu, HRP rekonstrukciju, epidemioloģisko vienību identificēšanu, mērķtiecīgas paraugu ņemšanas stratēģijas un atbilstošas diagnostikas metodes, lai nodrošinātu uz pierādījumiem balstītu uzliesmojumu pārvaldību un slimības kontroles pasākumu īstenošanu.

PATEICĪBA

Vārdi nespēj pilnībā izteikt manu patieso pateicību visiem tiem cilvēkiem, kuri mani iedvesmoja, atbalstīja, mācīja un vadīja šajā promocijas darba tapšanas ceļā.

Īpaša sadarbība ar kolēģiem no Frīdriha Leflera institūta (Friedrich-Loeffler-Institut, FLI), Vācijas Federālā dzīvnieku veselības pētniecības institūta, Igaunijas Dzīvības zinātņu universitātes un Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta "BIOR" izvērtās ne tikai vērtīgā zinātniskā sadarbībā, bet arī ilgstošās personīgās attiecībās un kopīgā aizrautībā meklēt atbildes uz neskaitāmiem epidemioloģiskajiem jautājumiem, kas saistīti ar Āfrikas cūku mēri. Šī sadarbība man deva iespēju strādāt kopā ar izcilu darba vadītāju un zinātnisko konsultantu komandu.

Mani darba vadītāji prof. Dr. Aivars Bērziņš un prof. Dr. Arvo Viltrops, kā arī zinātniskais konsultants Dr. Klaus Depners visā doktorantūras laikā ir bijuši nepārtraukts atbalsta, padomu, iedrošinājuma un zināšanu avots.

Studiju procesā, īpaši izstrādājot lauka pētījumus un brīžos, kad piedzīvota nedrošība vai apjukums, Klaus, Tavs atbalsts, iedrošinājums un vadība bija nenovērtējami. Tava zinātniskā kompetence, entuziasms un spēja saskatīt risinājumus tur, kur citi redzēja šķēršļus, man vienmēr ir bijis iedvesmas avots. Es vienmēr būšu dziļi pateicīga par Tavu atbalstu.

Sirsnīgi pateicos fondam "Vītolu fonds" par mana promocijas darba ieceres novērtēšanu un studiju atbalstīšanu, piešķirot LAB-AN stipendiju.

Vēlos izteikt arī patiesu pateicību Latvijas Zinātņu akadēmijai par mūsu pētījuma par Āfrikas cūku mēri atzinību, iekļaujot to starp nozīmīgākajiem sasniegumiem lietišķajā zinātnē 2025. gadā. Šāds novērtējums apliecina lietišķo pētījumu nozīmīgumu un kalpo kā vērtīgs iedrošinājums turpmākajam zinātniskajam darbam.

Mana visdziļākā pateicība pieder visiem promocijas darbā iekļauto publikāciju līdzautoriem. Jūs pārstāvat dažādas valstis un esat devuši unikālu pieredzi Āfrikas cūku mēra jomā, padarot mūsu kopīgo darbu daudzpusīgāku, vērtīgāku un iedvesmojošāku. Ideju apmaiņa, zinātniskās diskusijas un kopīgie centieni risināt Āfrikas cūku mēra kontroles izaicinājumus ir bijuši viens no nozīmīgākajiem ieguvumiem šajā ceļā.

Šis promocijas darbs nebūtu tapis bez dienām, mēnešiem un gadiem, kas pavadīti, strādājot kopā ar kolēģiem Pārtikas un veterinārajā dienestā. Īpaša pateicība Edvīnam Oļševskim - Tu man liki noticēt, ka doktorantūras studijas ir iespējams apvienot ar ikdienas darbu Pārtikas un veterinārajā dienestā. Esmu arī dziļi pateicīga par iesaistīšanu daudzās nacionālā un starptautiskā līmeņa pētniecības aktivitātēs, kas mani motivēja turpināt zinātnisko izaugsmi.

Vēlos pateikties arī Mārtiņam Seržantam par neskaitāmajām diskusijām, jautājumiem un stundām, kas pavadītas, strādājot plecu pie pleca Āfrikas cūku mēra uzliesmojumu izmeklēšanā, datu vākšanā un interpretācijā. Tavas idejas,

praktiskie risinājumi, kritiskā domāšana un humora izjūta vienmēr ir bijuši atbalsta un iedvesmas avots.

Visi Veterinārās uzraudzības departamenta kolēģi ir pelnījuši manu sirsnīgu pateicību par atbalstu, sadarbību un iedrošinājumu šo gadu garumā.

Esmu patiesi pateicīga visiem veterinārajiem inspektoriem un laboratorijas speciālistiem, kuri gadu gaitā bija iesaistīti Āfrikas cūku mēra uzliesmojumu izmeklēšanā un lauka darbā. Paraugu ņemšana, laboratoriskā diagnostika, datu apkopošana un neskaitāmās stundas, kas pavadītas skartajās novietnēs, veidoja pamatu šim pētījumam. Bez jūsu profesionalitātes, atbildības sajūtas un ieguldījuma šie pētījumi nebūtu bijuši iespējami.

Vēlos izteikt sirsnīgu pateicību Ingai Bedrītei par palīdzību promocijas darba tehniskajā noformēšanā un par vienmēr atbalstošo attieksmi visa procesa laikā.

Pateicība pieder arī maniem vecākiem, kuri vienmēr ir atbalstījuši manu lēmumu turpināt studijas un snieguši nenovērtējamu praktisku palīdzību, rūpējoties par manu māju un dārzu laikā, kad biju aizņemta ar pētniecisko darbu vai komandējumiem.

Mans vīrs Ivo un mūsu dēli Pēteris un Kristaps - es nespēju iedomāties atbalstošāku, mīlošāku un brīnišķīgāku ģimeni. Jūsu pacietība, sapratne, iedrošinājums un beznosacījumu mīlestība ir padarījusi šo ceļu iespējamu.

Visbeidzot, pateicos Dievam par Viņa neizmērojamo mīlestību, gudrību, vadību un svētībām, kas mani pavadījušas visas dzīves un šī akadēmiskā ceļa laikā.

REFERENCES

Addinsoft. (2019). Xlstat statistical and data analysis solution, Addinsoft.

Ardelean, F.; Globig, A.; Năvălici, A.I.G.; Blome, S.; Dietze, K.; Depner, K.; Zani, L. The course of African swine fever in Romanian backyard holdings—A case report. Veter. Med. Sci. 2021, 7, 2273–2279. [CrossRef]

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

Bellini S, Rutili D, Guberti V (2016): Preventive measures aimed at minimizing the risk of African swine fever virus spread in pig farming systems. Acta Vet Scand 58: 1–10. DOI 10.1186/s13028- 016-0264-x.

Blome, S., Franzke, K., & Beer, M. (2020). African swine fever—A review of current knowledge. Virus Research, 287, 198099. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198099.

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

Blome, S., Gabriel, C., Dietze, K., Breithaupt, A. and Beer, M. (2012): High virulence of African swine fever virus Caucasus isolate in European wild boar of all ages. Emerging Infectious Diseases, 18, 708.

Blome, S., Goller, K.V., Petrov, A., Dräger, C., Pietschmann, J., Beer, M. (2015): Alternative sampling strategies for passive classical and African swine fever surveillance in wild boar--extension towards African swine fever virus antibody detection. Vet Microbiol. 2014 Dec 5; 174(3-4):607-8. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.09.018. Epub 2014 Oct 5. PubMed PMID: 25448452.

Busch, F., Haumont, C., Penrith, M.-L., Laddomada, A., Dietze, K., Globig, A., Guberti, V., Zani, L., & Depner, K. (2021). Evidence-based African swine fever policies: Do we address virus and host adequately? Frontiers in Veterinary Science, 8, 637487. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.637487.

Cappai, S., Baldi, I., Desini, P., Pintore, A., Denurra, D., Cherchi, M., Rolesu, S., Mandas, D., Franzoni, G.; Fiori, M.S.; et al. Changes in Estimating the Wild Boar Carcasses Sampling Effort: Applying the EFSA ASF Exit Strategy by Means of the WBC-Counter Tool. Viruses 2022, 14, 1424. https://doi.org/10.3390/v14071424

de Carvalho Ferreira, H.C., Tudela Zúquete, S., Wijnveld, M., Weesendorp, E., Jongejan, F., Stegeman, A., Loeffen, W.L. (2014): No evidence of African swine fever virus replication in hard ticks. Ticks Tick Borne Dis. 2014 Sep;5(5):582-9. doi: 10.1016/j.ttbdis.2013.12.012. Epub 2014 Jun 26. PubMed PMID: 24980962.

Dhollander S., Balmoș O.M., Cattaneo E., Cortiñas J.A., Anette Ella Boklund A.E., Szczotka-Bochniarz A., Mihalca A.D., Mur L., Frant M., Gal-Cisoń A., Kwasnik M, Rozek W., Malakauskas A., Masiulis M., Turcinaviciene J., Chesnoiu T., Jazdzewski K., Rola J., Barbuceanu F., Miguel Ángel Miranda13 and Stegeman J.A.: Investigating the role of stable flies (Stomoxys calcitrans) and biting midges of the genus Culicoides as potential mechanical vectors of African swine fever virus in Lithuania, Poland and Romania. Parasites & Vectors (2025) 18:312 https://doi.org/10.1186/s13071-025-06816-w

(EC, 2002) Council Directive 2002/60/EC of 27 June 2002 Laying Down Specific Provisions for the Control of African Swine Fever and Amending Directive 92/ 119/EEC as Regards Teschen Disease and African Swine Fever. Available online: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32002L0060 (accessed on 25 April 2023).

EC (2003). Commission Decision 2003/422/EC of 26 May 2003 Approving an African Swine Fever Diagnostic Manual. Available online: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32003D0422 (accessed on 25 April 2023).

(EC 2014) Commission Implementing Decision 2014/709/EU of 9 October 2014 Concerning Animal Health Control Measures Relating to African Swine Fever in Certain Member States and Repealing Implementing Decision 2014/178/EU. Available online: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32014D0709 (accessed on 25 April 2023).

EC (2016). "Regulation (EU) 2016/429 of the European parliament and of the council of 9 March 2016 on transmissible animal diseases and amending and repealing certain acts in the area of animal health ('Animal Health Law')" Council and Parliament of the European Union. Available online: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/429/2021-04-21 (accessed on 25 April 2023).

EC (2018). "Working document Strategic approach to the management of African Swine Fever for the EU". SANTE/7113/2015. Available online: https://food.ec.europa.eu/animals/animal-diseases/diseases-and-control-measures/african-swine-fever_en (accessed on 25 April 2023).

(EC, 2019) Commission Delegated Regulation (EU) 2020/687 of 17 December 2019 supplementing Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and

the Council, as regards rules for the prevention and control of certain listed diseases, Available online: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_del/2020/687/oj (accessed on 25 April, 2023).

(EC, 2020) Commission implementing regulation (EU) 2020/2002 of 7 December 2020 laying down rules for the application of Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council with regard to Union notification and Union reporting of listed diseases, to formats and procedures for submission and reporting of Union surveillance programmes and of eradication programmes and for application for recognition of disease-free status, and to the computerised information system (accessed on 25 April, 2023).

(EC, 2023) Commission Implementing Regulation (EU) 2023/594 of 16 March 2023 laying down special disease control measures for African swine fever and repealing Implementing Regulation (EU) 2021/605, Available online: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32023R0594 (accessed on 25 April, 2023).

EFSA (2010): Scientific Opinion on African swine fever, EFSA J., 8, 1556

EFSA (2014): Scientific Opinion on African swine fever. EFSA J., 12, 3628

EFSA (2020): Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019), European Food Safety Authority, 18(1), e05996. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5996

EFSA (2021): Scientific Opinion on the assessment of the control measures of the category A diseases of Animal Health Law: African Swine Fever. EFSA Journal, 19(1), e06402. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6402

EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). (2018). African swine fever in wild boar. EFSA Journal, 16(7), e05344. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5344

EFSA (2024) Boklund, A. E., Stahl, K., Miranda Chueca, M. A.,Podgórski, T., Vergne, T., Cortinas Abrahantes, J., Cattaneo, E., Dhollander, S., Papanikolaou, A., Tampach, S., & Mur, L.(2024). Risk and protective factors for ASF in domestic pigs and wild boar in the EU, and mitigation measures for managing the disease in wild boar. *EFSA Journal*, *22*(12), e9095. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9095

EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). (2021). Assessment of the ability of different matrices to transmit African swine fever virus (ASFV). EFSA Journal, 19(4), e06360. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6360

European Union Reference Laboratory for ASF. (2018). “Standard operating procedure for the detection of antibodies against African swine fever by indirect immunoperoxidase technique”.

Farez, S. und Morley, R.S. (1997) – Potential animal health hazards of pork and pork products. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 16 (1), 65-78

Fernández-Pinero, J., Gallardo, C., Elizalde, M.,Robles, A.,Gómez,C., Bishop, R., Heath, L., Couacy-Hymann, E., Fasina, F. O., Pelayo, V., Soler, A., & Arias, M. (2013). Molecular diagnosis of African Swine Fever by a new real-time PCR using universal probe library. Transboundary and Emerging Diseases, 60(1), 48–58. https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01317.x

FVS Website 1: https://www.pvd.gov.lv/lv/afrikas-cuku-mera-uzliesmojumi-latvija (accessed on 25 April 2023).

FVS Website 2: https://www.pvd.gov.lv/lv/afrikas-cuku-meris-0 (accessed on 27 April 2023)

Gabriel, C., Blome, S., Malogolovkin, A., Parilov, S., Kolbasov, D., Teifke, J.P. and Beer M. (2011): Characterization of African Swine Fever Virus Caucasus Isolate in European Wild Boar. Emerging Infectious Diseases, 17, 2342-2345.

Gallardo, C., Fernández-Pinero, J., Pelayo, V., Gazaev, I., Markowska-Daniel, I., Pridotkas, G., Nieto, R., Fernández-Pacheco, P., Bokhan, S., Nevolko, O., Drozhzhe, Z., Pérez, C., Soler, A., Kolvasov, D., Arias, M. (2014): Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe. Emerg Infect Dis. 2014 Sep; 20(9):1544-7. doi: 10.3201/eid2009.140554

Gallardo, C., Mwaengo, D. M., Macharia, J. M., Arias, M., Taracha, Soler, E. A., A., Okoth, E., Martin, E., Kasiti, J. and Bishop, R. P. (2009): Enhanced discrimination of African swine fever virus isolates through nucleotide sequencing of the p54, p72, and pB602L (CVR) genes. Virus Genes 38, 85–95.

Gallardo, C., Soler, A., Nieto, R., Cano, C., Pelayo, V., Sánchez, M.A., Pridotkas, G., Fernandez-Pinero J., Briones, V. and Arias, M. (2015): Experimental infection of domestic pigs with African swine fever virus Lithuania 2014 genotype II field isolate. Transboundary and Emerging Diseases, 2015 Mar 22. doi: 10.1111/tbed.12346

Gogin, A., Gerasimov, V., Malogolovkin, A. and Kolbasov, D. (2013): African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007–2012. Virus Research, 173, 204–211.

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. 2015 Apr;21(4):731-2. doi: 10.3201/eid2104.141792.

Guinat, C.; Gubbins, S.; Vergne, T.; Gonzales, J.L.; Dixon, L.; Pfeiffer, D.U. Experimental pig-to-pig transmission dynamics for African swine fever, Georgia 2007/1 strain. Epidemiol. Infect. 2016, 144, 25–34.

Hoffmann, B., Depner, K., Schirrmeier, H., & Beer, M. (2006). A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. Journal of Virological Methods, 136(1–2), 200–209. https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.05.020

Krug, P.W., Larson, C.R., Eslami, A.C., Rodriguez, L.L. (2012) - Disinfection of foot-andmouth disease and African swine fever viruses with citric acid and sodium hypochlorite on birch wood carriers. Veterinary Microbiology 156, 96–101; doi:10.1016/j.vetmic.2011.10.032

Massei, G., Kindberg, J., Licoppe, A., Gačić, D., Šprem, N., Kamler, J., Baubet, E., Hohmann, U., Monaco, A., Ozoliņš, J., Cellina, S., Podgórski, T., Fonseca, C., Markov, N., Pokorny, B., Rosell, C., Náhlik, A. (2015): "Wild boar populations up, numbers of hunters down? A review of trends and implications for Europe." Pest Management Science 71(4): 492-500.

Mehinagic, K., Summerfield, A. (2026). African swine fever virus. Trends in Microbiology. https://doi.org/10.1016/j.tim.2026.02.006

Mellor, P.S., Kitching, R.P., Wilkinson, P.J. (1987): Mechanical transmission of capripox virus and African swine fever virus by Stomoxys calcitrans. Res Vet Sci. 1987 Jul; 43(1): 109-12.

(MK, 2004) Ministru kabineta noteikumi Nr.83 Rīgā 2004.gada 17. februārī (prot. Nr.7 17.§) Āfrikas cūku mēra likvidēšanas un draudu novēršanas kārtība, Available online: https://likumi.lv/ta/id/84573-afrikas-cuku-mera-likvidesanas-un-draudu-noversanas-kartiba, (Accessed on 25 April, 2023).

(MK, 2015) Ministru kabineta noteikumi Nr.291 Rīgā 2015.gada 9. jūnijā (prot. Nr.28 14.§)

MONTGOMERY, R. E., 1921. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *Journal of Comparative Pathology,* 34, 159–191 & 243-262.

Mouchantat, S., Globig, A., Böhle, W., Petrov, A., Strebelow, H.G., Mettenleiter, T.C., Depner K. (2014b): Novel rope-based sampling of classical swine fever shedding in a group of wild boar showing low contagiosity upon experimental infection with a classical swine fever field strain of genotype 2.3. Vet Microbiol. 2014 Jun 4;170(3-4):425-9.

Mouchantat, S., Haas B., Böhle, W., Globig, A., Lange, E., Mettenleiter, T.C., Depner, K. (2014a): Proof of principle: non-invasive sampling for early detection of foot-and-mouth disease virus infection in wild boar using a rope-in-a-bait sampling technique. Vet Microbiol. 2014 Aug 6; 172 (1-2):329-33.

Mur, L., Atzeni, M., Martınez-Lopez, B., Feliziani, F., Rolesu, S. and Sanchez-Vizcaino, J. M. (2014): Thirty-Five-Year Presence of African Swine Fever in Sardinia: History, Evolution and Risk Factors for Disease Maintenance

Mur, L., Martinez-Lopez, B., Sanchez-Vizcaino, J.M. (2012): Risk of African swine fever introduction into the European Union through transport-associated routes: returning trucks and waste from international ships and planes. BMC Vet Res, 8, 149.

Noteikumi par biodrošības pasākumu kopumu dzīvnieku turēšanas vietām. Available online: https://likumi.lv/ta/id/274930-noteikumi-par-biodrosibas-pasakumu-kopumu-dzivnieku-turesanas-vietam (Accessed on 25 April, 2023).

Oganesyana, A.S., Petrovaa, O.N., Korennoya, F.I., Bardinaa, N.S., Goginb, A.E., Dudnikova, S.A. (2013): African swine fever in the Russian Federation: Spatio-temporal analysis and epidemiological overview. Virus Research 173 (2013) 204– 211

Oleaga-Perez, A., Perez-Sanchez, R. and Encinas-Grandes, A. (1990): Distribution and biology of *Ornithodoros erraticus* inparts of Spain affected by African swine fever. Vet. Rec. 126, 32–37.

Oļševskis, E., Guberti, V., Seržants, M., Westergaard, J., Gallardo, C., Rodze, I., Depner, K. (2016): African swine fever virus introduction into the EU in 2014: Experience of Latvia. RVSC, doi: 10.1016/j.rvsc.2016.01.006

Oļševskis, E., Schulz, K., Staubach, C., Seržants, M., Lamberga, K., Pūle, D., Ozolinš, J., Conraths, F. J., & Sauter-Louis, C. (2020). African swine fever in Latvian wild boar—A step closer to elimination. Transboundary and Emerging Diseases, 67(6), 2615–2629. https://doi.org/10.1111/tbed. 13611

Pejsak, Z. and Stadejek, T. (2015): Epidemiology of African swine fever in Poland. Available at: https://www.pig333.com/print/9390

Petrov, A., Schotte, U., Pietschmann J., Dräger, C., Beer, M., Anheyer-Behmenburg, H., Goller, K.V., Blome, S. (2015): Alternative sampling strategies for passive classical and African swine fever surveillance in wild boar. Vet Microbiol. 2014 Oct 10; 173(3-4):360-5. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.07.030. Epub 2014 Aug 15. PubMed PMID: 25179470.

Pietschmann, J., Guinat, C., Beer, M., Pronin. V., Tauscher, K., Petrov, A., Keil, G. and Blome, S. (2015): Course and transmission characteristics of oral low dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate. Arch Virol, DOI 10.1007/s00705-015-2430-2

Pietschmann, J., Mur L., Blome, S., Beer, M., Pérez-Sánchez, R., Oleaga, A., Sánchez-Vizcaíno, J.M. (2016): African swine fever virus transmission cycles in Central Europe: Evaluation of wild boar-soft tick contacts through detection of antibodies against Ornithodoros erraticus saliva antigen. BMC Vet Res. 2016 Jan 4; 12(1):1. doi: 10.1186/s12917-015-0629-9. PubMed PMID: 26728767; PubMed Central PMCID: PMC4698789.

PVD, 2021; https://www.pvd.gov.lv/lv/publiskais-parskats

OIE Technical Disease Card: African swine fever, https://www.woah.org/en/document/african_swine_fever/ 15/06/2019, assessed on 25 April 2023

Sánchez-Vizcaíno, J. M., Mur, L., & Martínez-López, B. (2013). African swine fever (ASF): Five years around Europe. Veterinary Microbiology, 165(1–2), 45–50. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.11.030

Sergeant, E. S. G. (2018). Epitools epidemiological calculators. Ausvet. http://epitools.ausvet.com.au

Trotta, A.; Marinaro, M.; Cavalli, A.; Cordisco, M.; Piperis, A.; Buonavoglia, C.; Corrente, M. African Swine Fever—How to Unravel Fake News in Veterinary Medicine. Animals 2022, 12, 656. [CrossRef]

WOAH WAHIS. https://wahis.woah.org/#/home (Accessed on 27 April 2023)

World Organisation for Animal Health & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). African swine fever in wild boar: Ecology and biosecurity (2nd ed.). https://www.woah.org/app/uploads/2022/07/asf-in-wild-boar-ecology-and-biosecurity-2nd-ed.pdf

World Organisation for Animal Health. (2023). African swine fever (infection with African swine fever virus). In Terrestrial Animal Health Code.

https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/

Wozniakowski, G., Kozak, E., Kowalczyk, A., Łyjak, M., Pomorska-Mol, M., Niemczuk, K., Pejsak, Z. (2015): Current status of African swine fever virus in a population of wild boar in eastern Poland (2014-2015). Arch. Virol. DOI 10.1007/s00705-015-2650-5

Zani, L.; Dietze, K.; Dimova, Z.; Forth, J.H.; Denev, D.; Depner, K.; Alexandrov, T. African Swine Fever in a Bulgarian Backyard Farm—A Case Report. Veter. Sci. 2019, 6, 94. [CrossRef] [PubMed]