

**Анализ на данните от мониторинга за детекция на
тетрациклин и детерминиране на възрастта
при орално ваксинирани срещу бяс лисици в
Р.България” 2012 - м.06.2014**

**7-ма Национална научна конференция на
Българския фокален център на EFSA,
Център за оценка на риска, БАБХ,
София, 30 октомври 2014 г.**

**Доц. д-р Даринка Илиева, д-р
Ръководител на НРЛ**

“Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането”

**7-ма Национална научна конференция на
Българския фокален център на EFSA към
Център за оценка на риска, БАБХ, София, 30
октомври 2014 г.**

Научен колектив:

гл.ас.д-р Р.Петрова, ас.д-р Д.Атанасова

НДНИВМИ, гр.София

ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ СРЕЩУ БЯС

- **Усложнената епидемиологична ситуация в Европа от 2008 г. до настоящия момент в някои Европейски страни, в това число и България с установени случаи на класически бяс по животните наложи провеждането на орална ваксинация на лисиците, като доказано най-ефективен метод за контрол на заболяването чрез поетапното изпълнение на Решения 2008/897/ЕС; 2009/883/ЕС; 2010/712/ЕС; 2011/807/ЕС; 2012/761/ЕС и 2013/722/ЕС на Европейската комисия (ЕК).**
- **Във връзка с посочените Решения на ЕК от 2009 г. до настоящия момент БАБХ и НРЛ „Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането“, НДНВМИ, София, изпълняват Национална програма за контрол и изкореняване на беса от територията на Р.България.**

ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ СРЕЩУ БЯС

- Оралната ваксинация на лисиците (ОВЛ) се провежда на територията на Северна България и в някои области от Югозападна България, където са регистрирани случаи на бяс.
- Продължителност на оралната ваксинация 5-7 години и до (2 години след последния случай на бяс)

ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ СРЕЩУ БЯС

- Две ваксинационни кампании ежегодно;
- Пролетна кампания (март-май);
- Есенна кампания (септември-октомври);
- Дистрибутиране на ваксината с летателни средства;
- Ваксина Lysvulpen, Р.Чехия, щам SAD Bern, с доза 20 ваксинални примамки на 1 km² съдържащи биомаркер тетрациклин

ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ СРЕЩУ БЯС

- Европейската комисия (ЕС, 2002), Световната здравна организация (WHO, 2005) и Световна организация по здравеопазване на животните (OIE, 2005; 2008), препоръчват за оценяване на ефикасността на оралната ваксинация да се провеждат тестове за детекция на тетрациклин и определяне на възрастта на прицелните животни.
- Двата теста са ключови техники за оценяване приема на ваксинални примамки от прицелните животни.
- Провеждане на системен имунологичен скрининг за оценка на ефикасността на оралните кампании срещу бяс при лисиците.

ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ СРЕЩУ БЯС

- През 2012 г. в НРЛ “БКЕВ” бяха адаптирани и интродуцирани две нови техники за изпълнение и контрол на ефекта от ОВЛ;
- Детекция на тетрациклин в зъби и кости с отчитане на локализацията на биомаркера в (дентин, цимент и кост);
- Детерминиране във възрастова категория чрез конвенционално диференциране на отстреляните лисици на млади (J) < 1 година и стари (A) ≥ 1 година, в тъканни срези от зъби.

Материали

- Зъбни и костни проби (кучешки зъб с долна челюст (мандибула), от прицелни животни за откриване на тетрациклин от области с орална ваксинация срещу бяс
- Зъбни срези за детерминиране на възрастовата категория при прицелни животни от области с орална ваксинация срещу бяс

Общ брой изследвани и анализирани клинико-патологични материали и кр.проби: общо 3601 бр.

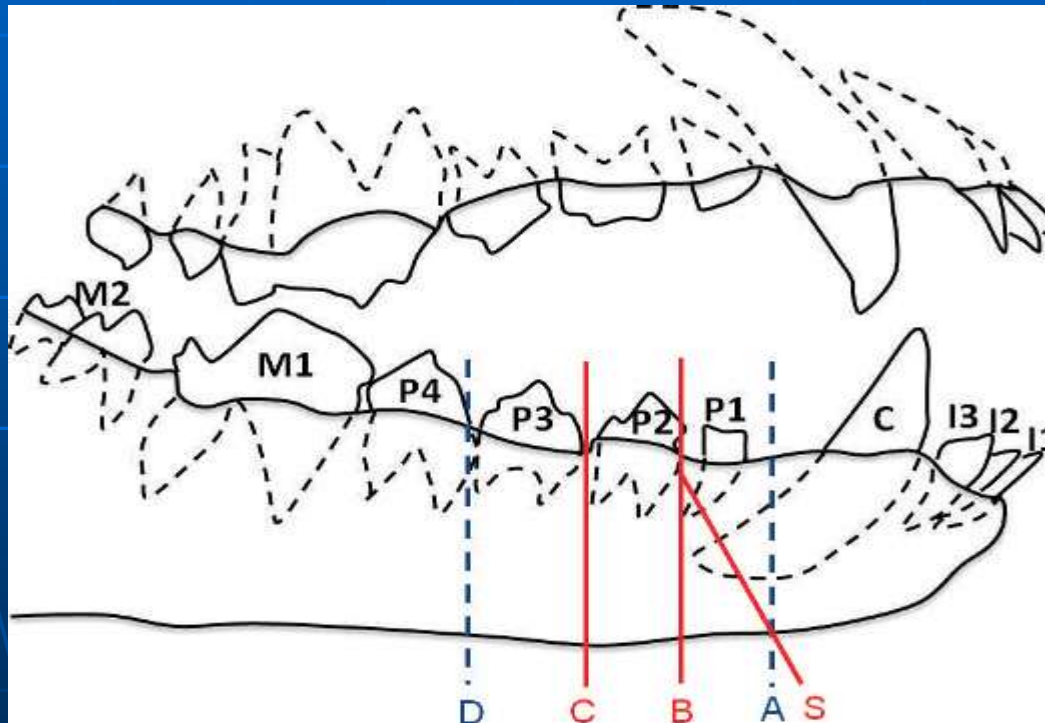
МЕТОД ЗА ДЕТЕКЦИЯ НА ТЕТРАЦИКЛИН

- Техниката за детекция на тетрациклин се състои в откриване на антибиотика, в растящи кости и зъби на прицелни животни приели ваксинални примамки срещу бяс.
- Изготвяне на трансверзални срези – микротом снабден с диамантен нож (модел Leica SP-1600, Low Speed Saw).
- Размери на трансверзалните срези до 150 μm
- Съхраняване на хистологичните срези при T -20 °C до наблюдението им с флуоресцентен микроскоп
- Наблюдение с флуоресцентен микроскоп Zeiss за детекция на тетрациклин с филтри A) DAPI или B) FITC с дължина на вълната 390 nm

Микротом Leica SP-1600, снабден с диамантен нож за изготвяне на срези от зъби и кости.



Схема за представяне на $\frac{1}{2}$ част от мандибула на лисица разделянето и в линии А, В, С и D. Правилно разделяне на мандибулата в (червени линии- В и С); коректно оформяне на трансверзален срез за детекция на тетрациклин в червена линия- S (сх. EU-RL по бяс).



Детекция на тетрациклин

За детекция на тетрациклин от значение е:

- правилното получаване на проби;
- качествени срези с оптимални размери от 80 μm до 150 μm ;
- отчитане присъствието на тетрациклин с локализация в (кост, дентин и цимент)
- брой на линиите на тетрациклина ;
- определяне на възрастта

Трансверзални срези от зъби и кости на прицелни животни



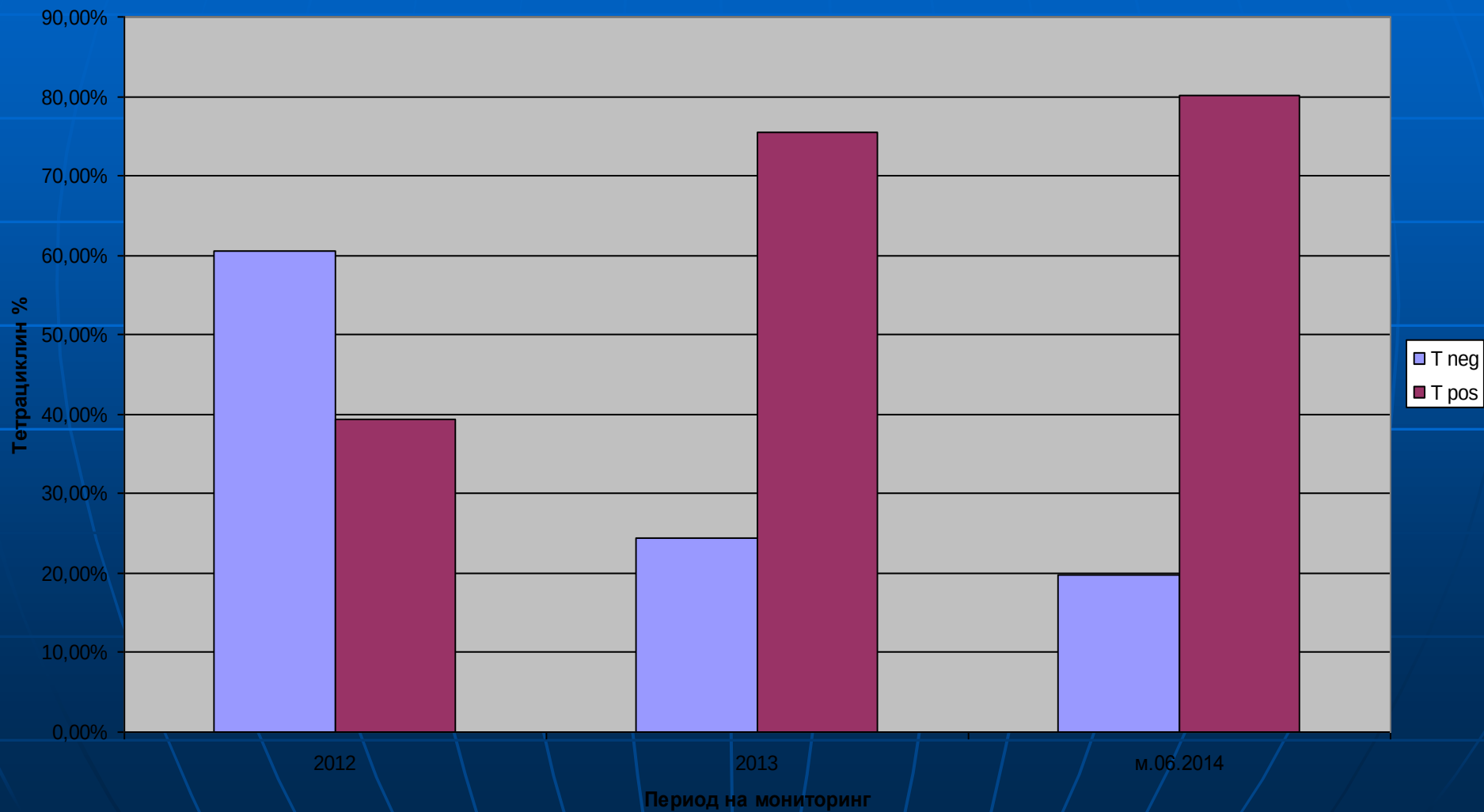
МЕТОД ЗА ДЕТЕРМИНИРАНЕ НА ВЪЗРАСТТА

Техниката за определяне на възрастта на лисиците се състои в наблюдаване на различни структури в кучешкия зъб-пулпна кухина, дентин и цимент, разположен около корена на зъба.

- Определянето на възрастта на прицелните животни е чрез преброяване на линиите в цимента и наблюдение на дентина, който се увеличава с възрастта.
- Диференциране на прицелните животни във възрастова категория –млади (J)/стари(A)
- Наблюдение на срезите с класически светлинен микроскоп.

РЕЗУЛТАТИ

Детекция на тетрациклин (Т) при лисици 2012 - м.06.2014



РЕЗУЛТАТИ

През 2012 г. отчетеното ниво на тетрациклин е 39,4%; 2013 г. - 75,5%. В Р.България до м.06. 2014 г. нивото на тетрациклин при лисиците се увеличава до 80,2%.

РЕЗУЛТАТИ

Локализация на тетрациклин при възрастни (А) и млади(Ј) лисици в зависимост от общия брой на изследваните проби 2012-м.06.2014

- дентин+цимент+кост	161(32,6%)	-
- дентин+кост	80(16,2%)	82(62,6%)
- цимент+кост	72(14,6%)	-
- дентин	70(14,2%)	41(31,3%)
- кост	47(9,5%)	8(6,1%)
- цимент	44(8,9%)	-
- дентин + цимент	20(4,0%)	-
Общо изсл. ЛС*+Т =625	494 А*+Т ЛС	131 Ј*+Т ЛС

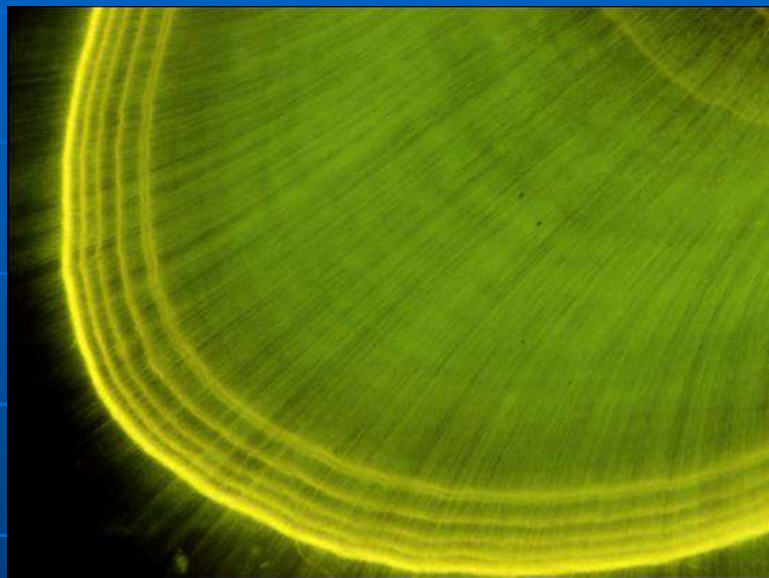
*ЛС (А) +Т- възрастни лисици тетрациклин позитивни

*ЛС (Ј) +Т- млади лисици тетрациклин позитивни

Биомаркер тетрациклин депозиран в дентина на зъба
визуализация с филтър FITC.



Детекция на > линии на тетрациклин в дентина на зъба
при лисица- (реф.контр. EU-RL)



Детекция на > линии на тетрациклин в тъканни срези от лисици

- През 2012-м.06.2014 г. наблюдавани срези с последователни линии от тетрациклин в дентина на зъба - общо 21 бр. (3,36%).
- Установеният процент е изключително нисък, което показва, че ваксиналните примамки са дистрибутирани равномерно по време на оралните кампании.

Детерминиране на възрастта

- Детерминирането на възрастта на животните позволява да се определи обхванатата от ваксинация популация от възрастни и млади животни.
- През 2012-м.06.2014 г. е определена възрастта на общо 1028 лисици (ЛС), анализът показва следното съотношение;

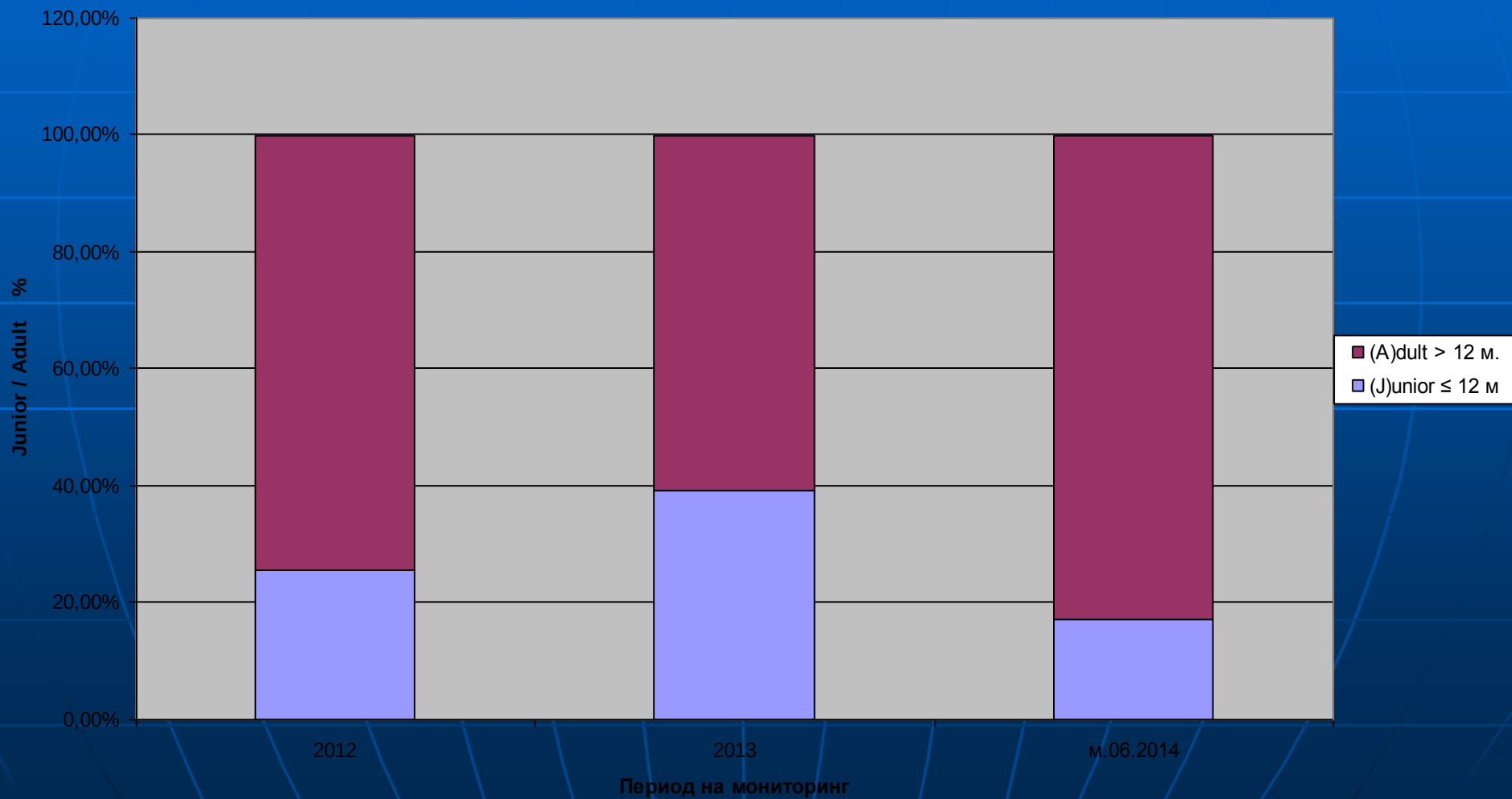
2012 г. - 25,5% млади (J) и 74,5% стари (A) ЛС;

2013 г.- 39,1% млади (J) ЛС и 60,9% стари (A) ЛС;

м.06.2014 г.- 17,2% млади (J) и 82,8% стари (A) ЛС.

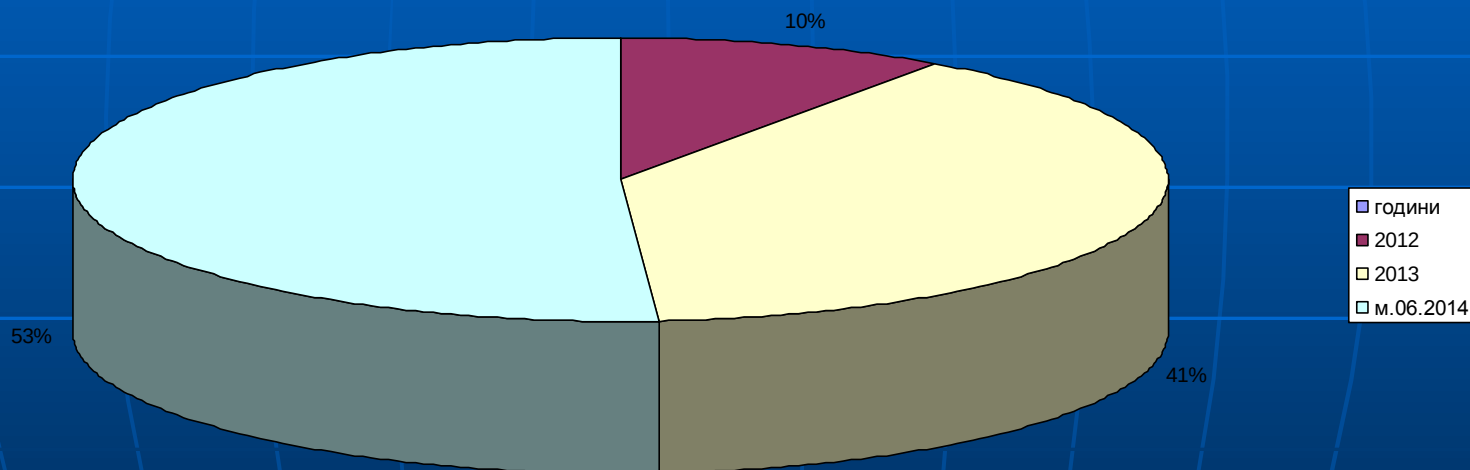
РЕЗУЛТАТИ

Детерминиране на възрастта при лисици 2012-м.6.2014



РЕЗУЛТАТИ

Серопреваленция при лисици 2012-м.06.2014



ИЗВОДИ

- За първи път в страната са адаптирани и внедрени в лабораторната практика 2 нови теста за детерминиране на възрастта и за детекция на биомаркер тетрациклин, за оценка на ефекта от провежданата в страната орална ваксинация срещу бяс при лисиците.
- Отчита се много добро приемане на ваксинални примамки, което се доказва с откриване на високи нива на тетрациклин през 2014 г., по-силно изразено при лисици на възраст > 12 месеца - 80,2%.
- След 6 годишно изпълнение на Националната програма за ерадикация на беса в Р.България, серопреваленцията при орално ваксинираните срещу бяс лисици до м.06.14 г. се повишава до 53%.
- Оралната ваксинация на лисиците срещу бяс трябва да продължи и през следващите години за постигане на имунни популации от прицелни животни, като едновременно с това е необходимо провеждането на мониторинг за оценка на ефективността на оралните кампании.

БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО!

