

ЕНДЕМИЧНИ СЛУЧАИ НА БЯС В БЪЛГАРИЯ**Д. Илиева**

Национална референтна лаборатория "Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането"
НДНИВМИ – София

ENDEMIC CASES OF RABIES IN BULGARIA**D. Ilieva**

National Reference Laboratory Rabies and Monitoring of the Effectiveness of the Vaccination
ND & RVMI – Sofia

Резюме. През 2014 г. в България бяха открити ендемични случаи на бяс във връзка с мониторинга на заболяването. През този период бяха изследвани 951 проби от 116 съмнителни животни и 835 отстреляни животни (755 лисици и 80 чакали) от 22 области с орална ваксинация. Серологично бяха изследвани 511 кръвни серума от 479 лисици и 32 чакали. Отчетеното ниво на сероконверсия при лисиците беше 37,4%. Детекцията на тетрациклин в зъби на лисици беше 59,9%. Детерминирана беше и възрастовата категория на прицелните популации чрез разграничаването им на млади (J) и стари (A) животни. В област Благоевград през 2014 г. бяха установени 2 ендемични случая на бяс при лисици. Епидемиологичната ситуация в съседните страни Сърбия, Румъния, някои региони на Северна Гърция и Турция беше все още усложнена поради големия брой случаи на бяс сред животните.

Ключови думи: бяс, мониторинг, орална ваксинация

Summary. During 2014 in Bulgaria with connection of rabies monitoring were detected endemic rabies cases. During this period were investigated 951 samples from 116 suspect animals and 835 shot animals (755 foxes and 80 jackals) from 22 areas with oral vaccination. Serologically were tested 511 blood samples from 479 foxes and 32 jackals. A seroconversion level by the foxes were 37,4%. The biomarker tetracycline in the teeth of foxes ranged to 59,9%. The age of the target populations were determined through to distinguish them from junior (J) and adult (A) animals. In regio Blagoevgrad during 2014 were detected 2 endemic rabies cases of foxes. The epidemiological situation in neighbour countries Serbia, Romania, some regions of Northern Greece and Turkey were complicated due to the large number of rabies cases among animals.

Key words: rabies, monitoring, oral vaccination

Епидемиологичните данни показват, че през 2013-2014 г. в Македония липсват случаи на бяс. Там през 2014 г. оралната ваксинация срещу бяс продължава с прилагане на ваксината Fuschsoral на площ 1 000 000 km², територията е същата, както предходната година. В Сърбия през 2014 г. са регистрирани 3 случая на бяс при лисици; в Румъния положителните случаи за същия период от време са все още голям брой – 166, от тях

96 лисици. В Гърция случаите на бяс през 2014 г. в сравнение с 2013 г. са намалели около 3 пъти, като са регистрирани 10 случая при 2 домашни кучета и 8 лисици (RAB, 2014; Robardet and Cliquet, 2015). В последните три страни площта за орална ваксинация през 2014 г. е намалена, както следва; Сърбия – 2 806 000 km², Румъния – 6 000 000 km² и Гърция – 1 317 983 km², (Robardet and Cliquet, 2015).

В Турция през 2014 г. отбелязаните случаи на бяс в сравнение с 2013 г. са се увеличили до 715 броя – 622 домашни и 93 диви животни, от тях 82 лисици, (RAB, 2014). Големият брой положителни случаи в тази страна наложи започването на орална ваксинация. През 2014 г. в Турция е проведена само една орална кампания на площ 105 000 km² и са дистрибутирани 1 900 000 дози от ваксината Fuschsoral, в количество 18 примамки/km², (Robardet and Cliquet, 2015).

Видно е, че България е заобиколена от страни, в които заболяването сред животните преобладава в значителна степен, което предполага преминаването на заразени с бяс животни на наша територия. За подобряване на епидемиологичната ситуация в държавите – членки на Европейския съюз (ЕС), в това число и за България, оралната ваксинация срещу бяс при лисиците беше утвърдена и съфинансирана от Европейската комисия (ЕК) с Решение 2013/722/ЕС от 29.11.2013 година.

В научната статия си поставихме за цел да представим актуални епидемиологични данни за беса, които показват превалентността на зоонозата в България.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

През 2014 г. в НРЛ „Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането“ чрез флуоресцентен антитялов тест (ФАТ) са диагностицирани общо 951 животни (Dean et al., 1996). По надзора на беса са изследвани 116 съмнителни животни. Във връзка с мониторинга на оралната ваксинация са изследвани 835 отстреляни диви животни (755 лисици и 80 чакали) предоставени от Областните дирекции по безопасност на храните (ОДБХ). За доказване на вируса на беса, използвахме диагностичен кит, съдържащ поликлонални антитела. За потвърждаване на негативния резултат от ФАТ при суспектни животни и свързаните с тях ухапани и/или одраскани контактни лица бяха заложени биологични опити с бели мишки с тегло 7-12 g и бе проведен миши инокулационен тест (MIT), (Koprowski, 1996).

За двете орални кампании през 2014 г. е използван ваксиналният щам SAD Bern. В оралната ваксинация бяха включени 22 ОДБХ – Видин, Монтана, Враца, Ловеч, Габрово, Плевен, В. Търново, Русе, Търговище, Разград, Шумен, Силистра, Добрич, Варна, София град, София област, Перник, Кюстендил, Бургас, Благоевград, Смолян

и Пазарджик. Общата площ, на която се проведе оралната ваксинация през 2014 г., беше разширена до 77 086 km². Необходим брой примамки за I ваксинация и за II ваксинация – 2 x 1 541 720 бр. или общо 3 083 440 бр., разпръснати от въздуха в доза 20 примамки на 1 km², мануелно залагане не е изпълнявано, (*Национална програма за контрол и изкореняване на болестта бяс на територията на Р. България чрез орална ваксинация на лисиците срещу бяс*, 2014).

За оценяване на ефекта от оралната ваксинация срещу бяс при лисиците през 2014 г. бяха използвани два стандартни теста за детекция на тетрациклин и определяне възрастта на прицелните популации. Имунологичният скрининг при лисиците за оценка на ефективността на оралната имунизация беше проведен с ELISA кит, на Biorad, Франция, (OIE Terrestrial Manual, 2013).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Епидемиологичните данни за превалентността на беса в България през 2014 г. бяха събрани във връзка с надзора и диагностичните изследвания на съмнителни животни от територията на страната и контрола на оралната ваксинация срещу бяс при отстреляни прицелни животни. През 2014 г. по надзора на беса чрез ФАТ са изследвани 116 бр. съмнителни диви и домашни животни, както следва: от Варна – 2 бездомни котки и 2 бездомни кучета; Бургас – 1 лисица, 2 бездомни котки и 1 овца; Добрич – 1 домашно куче; Шумен – 1 домашна котка; Разград – 1 бездомно куче; В. Търново – 1 домашна котка; Плевен – 1 бездомно куче, 1 домашно куче и 1 домашна котка; София град – 5 лисици, 28 бездомни кучета, 1 домашна котка и 1 плъх; Благоевград – 1 бездомна котка; Кюстендил – 1 овца, 1 домашно куче, 1 бездомна котка и 1 коза; Русе – 2 бездомни кучета; Хасково – 6 лисици; Габрово – 1 домашно куче; Сливен – 7 лисици, 1 бездомно куче и 1 домашно куче; Перник – 1 домашно куче; Кърджали – 18 лисици, 2 диви заека, 2 белки и 1 домашно куче; Враца – 1 домашно куче; Пазарджик – 4 лисици и 2 овце; Ямбол – 3 лисици, 1 домашна котка и 1 чакал; Стара Загора – 1 чакал, 2 лисици, 1 бездомно куче и 1 язовец; Пловдив – 1 лисица и 1 домашна котка от 21 ОДБХ от територията на цялата страна. В епидемиологично отношение, 8 от всички съмнителни животни са имали непосредствен контакт с

хора и са ухапали 13 лица без да е налице инфекцията от бяс. В тези случаи негативният резултат по ФАТ беше потвърден чрез МІТ.

През 2014 г. общата площ за провеждане на активния надзор на беса беше разширена и обхвана 22 области, с включване на цялата област Благоевград и две нови области – Смолян и Пазарджик. Чрез ФАТ бяха изследвани общо 835 мозъка на отстреляни диви животни – 755 лисици (ЛС) и 80 чакали (ЧК).

От представените данни в табл. 1 се вижда, че най-малко проби за изследване с техника ФАТ в лабораторията по бяс са постъпили от 4 области – Добрич, Русе, София-град и София област. Две ОДБХ – Кюстендил и Силистра, през 2014 г. са осигурили задоволителен брой проби във връзка с мониторинга на оралната ваксинация.

В резултат на проведените скринингови изследвания през 2014 г. бяха открити два ендемични случая на бяс в страната. Двамата положителни случая са при лисици и са отбелязани в област Благоевград, което свидетелства за персистираща и териториално разпростираща се заболяемост от бяс от Западния към Югозападния регион на страната. Регистрираните случаи на бяс са през март 2014 г. при отстреляна съмнителна лисица и през юни 2014 г. при суспектна лисица, убита от кола при пътнотранспортно произшествие (ПТП). Известно е, че област Благоевград е близо до Гърция, която на 7 март 2014 г. съобщава за значителен брой диви и домашни животни общо 45, от които 37 лисици заразени с вируса на беса и открити в Северна Гърция през периода октомври-ноември 2012 г. до март 2014 г. (Anonymous, 2014).

Таблица 1. Изследвани проби във връзка с оралната ваксинация срещу бяс с ФАТ през 2014 г.

ОДБХ	Общ брой на изсл. проби	Лисици	Отр.	Полож.	Чакали	Отр.	Полож.
1. Благоевград	110	109	107	2	1	1	–
2. Добрич	5	5	5	–	–	–	–
3. Силистра	119	90	90	–	29	29	–
4. Шумен	29	23	23	–	6	6	–
5. Разград	20	19	19	–	1	1	–
6. Русе	4	2	2	–	2	2	–
7. Търговище	49	48	48	–	1	1	–
8. В. Търново	19	19	19	–	–	–	–
9. Плевен	20	20	20	–	–	–	–
10. Ловеч	13	8	8	–	5	5	–
11. Габрово	34	28	28	–	6	6	–
12. Монтана	78	78	78	–	–	–	–
13. Видин	41	41	41	–	–	–	–
14. Враца	25	23	23	–	2	2	–
15. София град	4	4	4	–	–	–	–
16. София област	9	6	6	–	3	3	–
17. Перник	23	21	21	–	2	2	–
18. Кюстендил	156	135	135	–	21	21	–
19. Бургас	14	14	14	–	–	–	–
20. Варна	29	28	28	–	1	1	–
21. Смолян	23	23	23	–	–	–	–
22. Пазарджик	11	11	11	–	–	–	–
ОБЩО:	835	755	753	2	80	80	–

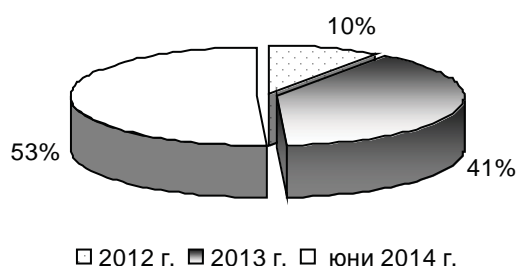
Двата теренни изолата на вируса на беса бяха идентифицирани с ФАТ и типизирани в Референтната лаборатория по бяс на Общността (EU-RL), Франция. Вирусните изолати се различават от ваксиналния щам SAD Bern. Генетичният анализ проведен в EU-RL показва, че се касае за "класически вирус на беса" (RABV, genotype – 1). Доказана е 100% нуклеотидна идентичност между двата щамата, изолирани от лисици през 2014 г., с един щам от лисица, изолиран по-рано в България през 2009 г., както и 100% идентичност на вирусния щам, изолиран през юни 2014 г., с един сръбски изолат, (Picard-Meyer, E. et al, 2014).

Серологично с тест ELISA през 2014 г. са изследвани общо 479 кръвни проби от лисици (ЛС). Резултатите от теста ELISA показаха, че Ab позитивни са 179 (37,4%), кръвни серума от лисици (ЛС), от тях Ab позитивни са 127 (73%) кръвни серума от възрастни (А) ЛС и 52 (27%) кръвни серума от млади (J) ЛС. Кръвните серуми от лисици без наличие на Ab са 300 (62,6%), от които 131(44%) от възрастни (А) ЛС и 169 (56%) от млади (J) ЛС, както е илюстрирано на табл. 2.

Таблица 2. Резултати от ELISA Ab теста според възрастта –млади ЛС (J)/възрастни ЛС (А) 2014 г.

Възраст	ELISA Ab pos	%	ELISA Ab neg	%
≤ 12 месеца	52J	27%	169 J	56%
12-24 месеца; > 24 месеца	127 A	73%	131 A	44%
Общо: 479 ЛС	179 (37,4%)		300 (62,6%)	

През 2012 г. и 2013 г. са осъществени по 2 орални кампании (пролетна и есенна). През 2012 г. процентът на серопреваленция при лисици беше 10%, през 2013 г. се повиши 4 пъти и достигна 41% (фиг. 1). Общият размер на серопозитивните реакции до юни 2014 г. възлиза на 53%, (Илиева и сътр., 2014)



Фиг. 1. Серопреваленция при лисици 2012-юни 2014 г.

През 2014 г. оралната ваксинация за първи път обхваща цялата област Благоевград и две нови области Смолян и Пазарджик. В тези 3 области серопреваленцията беше по-ниска и варираше в границите от 14 до 23%, тъй като популациите от лисици бяха все още недостатъчно имунни. Включването в оралната ваксинация на нови области оказва влияние върху серопреваленцията при лисиците, която в края на 2014 г. се понижи до 37,4% (табл. 2).

В техническия доклад на данните, събрани и анализирани от EU-RL, се отбелязва, че на настоящия етап процентът на сероконверсия в страните, които провеждат орална ваксинация срещу бяс, силно варира от 1 до 59% (Robardet and Cluquet, 2014). В повечето страни от югоизточна Европа, изпълняващи програми за ликвидиране на беса, нивото на сероконверсия при прицелните животни достига 30%, принципно, когато се използва ELISA кит на Biogad, Франция, което изцяло съвпада с постигнатите от нас резултати.

В страната есенната орална кампания срещу бяс при лисиците закъсна и се проведе през м.12.2014 г. Получените резултати от серопреваленцията през първите 4 месеца на 2015 г. показаха, че броя на имунните лисици след ваксинацията срещу бяс се е увеличил до ≈ 52%.

Детерминиране на възрастовата категория беше проведено на общо 755 лисици, от тях 290 бр.(39%) бяха млади (J) лисици и 465 бр. (61%) стари (A) лисици, (табл. 3). При определяне на възрастта при лисиците се установи, че данните в процентно отношението през 2014 г. напълно съвпадат с тези от 2013 г.

Таблица 3. Изследвани проби от лисици (ЛС) според възрастта – млади ЛС (J)/възрастни ЛС(А) 2014г.

Възраст	Изследвани ЛС J/A	Процент (%)
≤ 12 месеца	290 J	39%
12-24 месеца; > 24 месеца	465A	61%
Общо: 755 ЛС	755	

През 2014 г. за детекция на тетрациклин (Т) бяха анализирани 753 зъбни срези от лисици. Тетрациклин позитивни бяха 451 (59,9%) лисици, от които 68(15%) млади (J) ЛС и 383 (85%) стари (A) ЛС. Тетрациклин негативни бяха 302 (40,1%), от тях 222 (74%) млади (J) ЛС и 80 (36%) стари (A) ЛС, виж табл. 4.

Таблица 4. Резултати от теста за Т според възрастта – млади ЛС (J)/възрастни ЛС (А) 2014 г.

Възраст	T pos	%	T neg	%
≤ 12 месеца	68 J	15%	222 J	74%
12-24 месеца; > 24 месеца	383A	85%	80A	36%
Общо: 753ЛС	451 (59,9%) ЛС	–	302(40,1%) ЛС	–

В техническия доклад и анализа на данните на EU-RL по бяс за 2014 г. е констатирано, че за страните, разположени в югоизточна Европа, детекцията на тетрациклин се движи между 30 и 60%, което корелира с постигнатите от нас резултати (Robardet and Cliquet, 2014).

Серологично с тест ELISA през 2014 г. бяха изследвани 32 кръвни проби от чакали (ЧК). Получените данни показаха, че наличие на антитела (Ab) имат 10 кръвни проби от чакали (ЧК), от тях Ab позитивни бяха 6 кръвни серума от възрастни (А) ЧК и 4 кръвни серума от млади (J) ЧК. Кръвните серуми от чакали без Ab бяха 22(69%), от които 12 (55%) възрастни (А) ЧК и 10 (45%) млади (J) ЧК, (табл. 5).

Таблица 5. Резултати от ELISA Ab теста според възрастта – млади ЧК(J)/възрастни ЧК(А) 2014 г.

Възраст	ELISA Ab pos	%	ELISA Ab neg	%
≤ 12 месеца	4 J	40%	10 J	45%
12-24 месеца; > 24 месеца	6 A	60 %	12A	55%
Общо: 32 ЧК	10 (31%)		22 (69%)	

Определена бе възрастта на 80 чакала (ЧК), 38 броя от тях (48%) бяха млади (J) ЧК и 42 броя (52%) – стари (А) ЧК (табл.6). Представените резултати показват, че при определяне на възрастовата категория през 2014 г. сред популацията от чакали в процентно отношение не се установяват значителни разлики при сравняване с данните от 2013 г.

Изследвани за детекция на тетрациклин (Т) през 2014 г. бяха 80 чакала. Тетрациклин позитивни бяха 57 (71%), от които 22 (39%) млади (J) и 35(61%) стари (А) ЧК. Тетрациклин-негативни бяха 23 (29%), от които 16 (70%) млади (J) ЧК и 7 (30%) стари (А) ЧК (табл. 7).

Таблица 6. Изследвани проби от чакали (ЧК) според възрастта – млади ЧК (J)/възрастни ЧК (А) 2014 г.

Възраст	Изследвани ЧК J/A	Процент (%)
≤ 12 месеца	38 J	48%
12-24 месеца; > 24 месеца	42 A	52%
Общ бр. проби от зъби и кости:	80	

Таблица 7. Резултати от теста за (Т) според възрастта – млади ЧК(J)/възрастни ЧК(А) 2014 г.

Възраст	T pos	%	T neg	%
≤ 12 месеца	22 J	39%	16 J	70%
12-24 месеца; > 24 месеца	35 A	61%	7 A	30%
Общо: 80 ЧК	57 (71%) ЧК	–	23 (29%) ЧК	

При чакалите използваният ваксинален щам SAD Bern не създава имунитет срещу бяс. Проведените от нас редица серологични изследвания през последните няколко години, показаха, че процентът на серопозитивни реакции при чакалите е изключително нисък между 2 и 8,5%. Установяването на по-висок процент на серопреваленция при чакалите през 2014 г. не подлежи на коментар, тъй като в сравнение с 2013 г. изследваните чакали са около 5 пъти по-голям брой в сравнение с 2014 г. и по тази причина сме на мнение, че по всякакъв начин липсва съпоставимост на постигнатите резултати. Същевременно изследванията за детекция на тетрациклин при чакалите показват, че те много добре приемат ваксиналните примамки с атрактант в сравнение с лисиците и затова процентът на оралния маркер е малко по-висок при тях. В същото време, както отбелязахме по-горе, те не изграждат поствакцинален имунитет. За периода от време от 1997 г. до 2009 г. в България са регистрирани 22 случая на бяс при чакали, което показва, че те са природен резервоар за вируса на беса и пренасят *силватичен бяс*. За постигане на високо ниво на сероконверсия сред популацията от чакали е необходимо да се използват ефикасни ваксини, които се дистрибутират и прилагат за ерадикация на *силватичния бяс* в Европа.

Изводи

- В Югозападна България в област Благоевград през 2014 г. са регистрирани два ендемични случая на бяс.
- Вирусният щам, изолиран през юни 2014 г. показва 100% нуклеотидна идентичност с един

сръбски изолат, което недвусмислено показва източника на инфекцията от бяс.

● Разширяването на площта на оралната ваксинация срещу бяс през 2014 г. доведе до обхващане на неимунни популации от лисици и допренесе за понижаване на серопревалентията до 37,4% и на нивото на оралния маркер тетрациклин до 59,9%.

Библиография

1. Илиева, Д. и сътр. Анализ на данните от мониторинга за детекция на биомаркер тетрациклин и детерминирани на възрастта при орално ваксинирани срещу бяс лисици в Р. България” 2012–юни 2014. Доклад на 7-ма научна конференция на БФЦ на EFSA към Центъра за оценка на риска, БАБХ, София, 30 октомври, 2014 г.
2. Anonymous, 2014. HPA-Rabies in northern Greece, up date, 10 March, 2014.
3. Dean, D., M. Abelseh, P. Atanasiu. The fluorescent antibody test. – In: Meslin, F. X., Kaplan, H, Koprowski, eds. Laboratory techniques in rabies, 4th ed. Geneva, Switzerland, World Health Organisation, 1996, 88-95.
4. Koprowski, H. The mouse inoculation test. In: Meslin, F.X., M. M. Kaplan, H. Koprowski, (eds.) Laboratory techniques in rabies, 4th ed. Geneva, Switzerland, WHO, 1996, 80-87.
5. Picard-Meyer, E. et al. Analysis of nucleotide sequences on rabies isolates from Bulgaria, 20 August, 2014, 1-9.
6. Rabies-Bulletin-Europe.2014
7. Robardet, E. et F. Cliquet. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLS in 2013, publ. July 2014, 1-11.
8. Robardet, E. et F. Cliquet. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLS in 2014, publ. June 2015, 1-14.

✉ *Адрес за кореспонденция:*

Доц. д-р Даринка Илиева, д-р
НПЛ „Бяс и контрол на ефективността от ваксинирането”
Национален диагностичен научно-изследователски
ветеринарномедицински институт
бул. „Пенчо Славейков“ № 15 А
1606 София
e-mail: emd@mail.orbitel.bg