

КОНТРОЛ НА БЕСА В ЕВРОПА ЧРЕЗ ОРАЛНА ВАКСИНАЦИЯ ПРИ ДИВИ ХИЩНИЦИ

Д. Илиева, П. Славеев

НРЛ „Бяс и антракс“, НДНИВМИ – София

CONTROL OF RABIES IN EUROPE WITH ORAL VACCINATION IN WILDLIFE

D. Ilieva, P. Slavev

National Reference Laboratory of Rabies and Anthrax, National Diagnostic Research Institute of Veterinary Medicine – Sofia

Резюме. В статията са представени данни от контрола на беса в различни европейски страни чрез орална ваксинация срещу бяс при дивите хищници. Благодарение на оралните кампании инцидентите на бяс сред популацията от животни в Европа драстично са редуцирани или напълно са елиминирани. В зоните с ваксинация е провеждан активен надзор и пробите са изследвани с международно стандартизирани тестове, препоръчани от OIE и WHO.

Ключови думи: бяс, орална ваксинация, диви животни, Европа

Адрес за кореспонденция: Проф. Даринка Илиева, дм, e-mail: emd@mail.orbitel.bg

Abstract. The article presents data from the control of rabies in different European countries through oral vaccination against rabies in wildlife. Thanks to oral campaigns, rabies incidents among the animal population in Europe have been drastically reduced or completely eliminated. Active surveillance was carried out in the vaccination areas and the samples were examined by performing internationally standardized tests recommended by the World Organization for Animal Health (OIE) and WHO.

Key words: rabies, oral vaccination, wildlife, Europe

Address for correspondence: Prof. Darinka Ilieva, PhD, e-mail: emd@mail.orbitel.bg

В европейските страни бесът при кучетата е елиминиран преди няколко десетилетия, но продължава да персистира и да се разпространява сред популацията от лисици, енотовидни кучета и други диви хищници. Благодарение на оралните кампании при диви животни, инцидентите на бяс сред популацията от животни в ЕС са драстично редуцирани. Бесът е елиминиран в Нидерландия, Финландия, Швейцария, Франция, Белгия, Люксембург, Чехия, Австрия, Германия, Естония, Италия, Латвия и Словения (Robardet, 2023). В глобален план най-ефективната стратегия за превенция на хората от бяс е ерадикация на заболяването при диви животни и кучета чрез ваксинация. Daptardar (2024) съобщава, че популацията от кучета в света наброява около 700 млн. като 75% от тях са безстопанствени (скитащи) кучета. Скитащите кучета играят ключова роля в предаване на инфекцията от бяс при други кучета. WOAH е разработила международни стандарти, касаещи ефикасността и безопасността на оралните ваксини против бяс при диви животни и кучета. Оралната ваксинация (ОВ) може да се окаже ефикасен начин за ерадикация на зоонозата посредством широкомащабното ѝ прилагане като интегрирана стратегия за контрол на беса, медиран от кучета чрез изграждане на стаден имунитет

при тях с крайна цел нулева смъртност при хората до 2030 г. Стандартите на WOAH по отношение на ваксините за кучета, надвишават изискванията за таргетните видове диви животни. Те включват оценка на риска за хората чрез отчитане на вероятността да имат контакт с ваксината, както и последиците за тяхното здраве (WOAH-Bulletin, 2023).

За ликвидиране на RABV сред бозайници в ЕС ще се докладва и през следващите години. За своевременното откриване на суспектни животни в Европа, базирано на програмите за ерадикация на беса, се налага продължаване на мониторинга. Във връзка с нелегалния внос на заразени с бяс животни от ендемични региони и страни (най-често на кучета и котки) от изключителна важност е да се съобщава за положителни случаи при тях чрез системата за ранно оповестяване (ProMED).

В по-голяма част от страните в Европа контролът на беса при дивите хищници е чрез провеждане на орални кампании, активен мониторинг в зоните с ваксинация и провеждане на лабораторно-диагностични изследвания чрез изпълнение на международно стандартизирани тестове, препоръчани от OIE и WHO. Благодарение на оралните кампании инциденти с бяс при домашни и диви животни в редица европейски страни липсват или са

силно ограничени. Нелегалният внос на заразени с вируса на беса домашни любимци е предимно от страни с ендемичен бяс или от трети страни, което причинява регулярно случаи на бяс в Европа.

В някои страни напр. в Молдова през 2020 г. са констатирани голям брой случаи на бяс сред популацията от животни общо 49, въпреки че през 2019 г. те са два пъти повече (RAB, 2019). През 2021 г. епидемиологичната ситуация по отношение на беса в Украйна е сложна, установени са 704 инцидента на бяс при животни, от които 280 са при лисици при сравнение с 2020 г., когато в страната са докладвани още по-голям брой заразени с бяс лисици – общо 570. През 2021 г. в Украйна е извършена само есенна орална кампания (ADIS, 2021; Robardet and Cliquet, 2021). Поради изключително големия брой случаи на бяс в Украйна може да се отбележи, че до 2021 г. най-вероятният път за проникване на заразени с бяс животни към територията на Молдова, Румъния и Полша, както и в Прибалтийските републики е от Украйна. За България съществува постоянен риск за трансмисия на беса от съседните държави – Румъния и Турция, които ежегодно докладват бяс. Необходимо е в България редовно да се провежда орална ваксинация при лисици, както и в страните от Западните Балкани. Липсата на финансови средства за провеждане на орална ваксинация при лисици (ОВЛ) negliжира проблема бяс в региона, въпреки че в страна ни от 2010 г. досега има подобряване на епидемиологичната обстановка. По тази причина е необходима стратегия, която да координира ваксинацията за период от няколко години с цел покриване на 70% от популацията на лисиците (GF-TADs, 2021-2025).

Данните през 2021 г. показват, че са регистрирани 300 случая на бяс при 109 диви животни и 191 домашни животни (Robardet, 2022). Ето защо през 2021 г. някои страни членки на ЕС продължават да изпълняват многогодишни програми за контрол на беса чрез ОВ, одобрени и съфинансирани от ЕК.

По отношение на епидемиологичната ситуация на беса европейските страни са класифицирани по групи. През 2021 г. към група „А“ спадат страни с 1 или повече случаи на бяс годишно; Молдова – 23; Полша – 113; Турция – 153; Румъния – 5; Испания – 5; Германия – 1 (Robardet, 2022). През 2021 г. в Полша са открити 21 ендемични случаи на бяс в регион Mazowieckie (Smreczak, 2021; 2022). Във връзка с елиминиране на трансмисията от рабиесвирус полските ветеринарните власти провеждат през 2022 г. 3 орални кампании срещу бяс при лисици с ваксина Lysvulpen. В Турция са проведени 2 кампании с ваксина Fuschoral; в Молдова – 2 кампании с ваксина Lysvulpen. Епидемиологичната ситуация в Румъния е усложнена, тъй като в страната съ-

ществува постоянен риск инфектирани с бяс животни трансгранично да проникнат от Молдова. Въпреки това Румъния през 2021 г. не е провеждала ОВЛ по финансови причини, но броят на животните, изследвани по пасивен надзор на беса, през същата година е увеличен до 2956 проби.

През 2022 г. Румъния извършва 1 кампания с ваксина Rabadrop (Robardet, 2023). През 2021 г. там са докладвани общо 5 случая на бяс при 4-ри домашни животни и 1 лисица. През 2022 г. позитивните случаи в тази страна са 28 (21 домашни животни и 7 лисици), а през 2023 г. случаите на бяс са се увеличили до 51, от тях 19 са при диви животни (Robardet, 2024). Румъния до средата на 2024 г. е регистрирала 11 случая на бяс – 7 лисици, 2 едри преживни животни (ЕПЖ) и 2 кучета (Vuta 2024).

Към група „В“ са причислени 7 страни: Литва, Латвия, Естония, Унгария, Словакия, Хърватия и Финландия. През 2021 г. те са изключени от група „А“, но тъй като в страните, с които граничат е отбелязан поне по един ендемичен случай на бяс годишно, те продължават ОВ през 2021 г. В Унгария през 2021 г. са проведени 2 орални кампании (пролетна и есенна) на обща площ 54,846 km², въпреки че последният случай на бяс в тази страна е отбелязан през 2017 г. През 2022 г. в Унгария са открити общо 4 заразени с бяс животни, от които 3 положителни лисици. През 2022 г. Унгария и Хърватия провеждат по 2 кампании с ваксина Rabadrop; Словакия, Литва и Латвия х 2 кампании с Lysvulpen; Естония по 2 кампании и Финландия по 1 кампания с ваксина SPBN GasGas. (Robardet, 2023). През 2022 г. Унгария не изследва отстреляни животни, а само животни от пасивен надзор, а през 2023 г. там са регистрирани 16 случая на сухоземен бяс и 1 случай на прилепен бяс, в т.ч. са открити 10 лисици, заразени с рабиесвирус (RAB, 2023). В Словакия през 2021 г. се извършва ваксинация в източната част на страната. Ветеринарните власти имат контракт за спешна ваксинация в случай на констатиране на зоонозата и продължават да провеждат ежегодно пасивен надзор. В Словакия и Словения през 2021 г. липсват положителни случаи, но в гранични на тях страни в съседство са открити случаи на бяс през предходната 2020 г. През 2019-2022 г. Словакия провежда по 2 кампании с ваксина Lysvulpen. (GF-TADs, 2021-2025; Robardet and Cliquet, 2020; 2021; Robardet, 2022; 2023).

Към група „С“ през 2021 г. са включени: Р. Северна Македония, Сърбия, Босна и Херцеговина и Косово. Те са изключени от група „А“ и „В“, граничат със страни, в които няма ендемични случаи на бяс, но някои от тях провеждат ОВ през 2021 г., тъй като са под постоянен риск от трансмисия на бяс. В Р. Северна Македония и Сърбия през 2021 г. е проведена по 1 кампания с ваксина Lysvulpen. В Р. Северна Македония положителни случаи на

бяс за последно са открити през 2012 г. В Сърбия последния случай на бяс при лисица е обявен през 2018 г. През 2021 г. орална ваксинация в Босна и Херцеговина не е провеждана. През 2022 г. там е проведена 1 кампания с Lysvulpen, в Р. Северна Македония – 1 кампания с Rabadrop, докато в Сърбия през 2022 г. ОВЛ срещу бяс липсва по финансови причини.

Към група „Д“ е включена България и още две страни – Германия и Гърция, които са изключени от групите – А, В и С, но граничат със страни, имащи по един ендемичен случай на бяс през 2020 г. България и Гърция през 2020 г. провеждат по 2 кампании с Lysvulpen, в Германия през същата година липсва ОВ при лисиците. България, Гърция и Германия не провеждат ОВ през 2021 г. Може да се отбележи, че в България и Гърция последните случаи на бяс са докладвани през 2014 г. През 2022 г. Гърция извършва 2 орални кампании с Rabadrop.

Към група „Е“ са включени 16 страни, които са извън групите А, В, С и Д и не провеждат ОВ срещу бяс – Люксембург, Чехия, Словения, Италия, Белгия, Австрия, Черна гора, Нидерландия, Франция, Испания, Кипър, Дания, Ирландия, Норвегия, Португалия и Швеция. В Черна гора случай на бяс е регистриран през 2013 г. През 2021 г. по финансови причини в тази страна ваксинация не е проведена. В Словения обстановката по отношение на беса през 2021 г. е благоприятна, в страната през 2020-2022 г. липсват орални кампании, но има план да се продължи ОВЛ през 2023 г. (GF-TADs, 2021-2025). През 2022 г. 16 държави провеждат орална ваксинация – Албания, Босна и Херцеговина, Хърватия, Естония, Финландия, Гърция, Унгария, Литва, Латвия, Молдова, Черна гора, Р. Северна Македония, Румъния, Полша, Словакия и Турция (Robardet, 2023). През 2023 г. 18 страни извършват по 2 кампании на година през (пролетта и есента) с изключение на България, Финландия, Косово, Молдова, Северна Македония, Румъния и Турция, които оформят по 1 кампания и Полша, която е провела 3 орални кампании (Robardet, 2024).

АКТУАЛНА ЕПИДЕМИОЛОГИЧНА СИТУАЦИЯ НА ЗООНОЗАТА БЯС В ЕВРОПА И МОНИТОРИНГ НА ОРАЛНАТА ВАКСИНАЦИЯ

Във връзка с изпълнение на програмите за ОВ е предвидено да се отстрелват и събират от зоните с ваксинация по 4 прицелни животни на 100 km² за двете орални кампании (пролетна и есенна). Вирусът на беса е възможно да бъде елиминиран в Европа чрез контрол на заболяването с ОВ при лисици, енотовидни кучета и други диви хищници, както и чрез стриктното спазване на законодателните мерки и правилата в ЕС за внос на домашни любимци от трети страни. За да се

оцени ефикасността ОВ кампаниите се провеждат серологични изследвания и се анализира приемът на ваксинални примамки при таргетните животни (ЕС, 2002; EFSA, 2015). Процентът на сероконверсия при таргетните популации варира от 16 до 61% през 2021 г.; за 2022 г. се движи от 13 до 60%, а през 2023 г. – от 2 до 67%, препоръката на СЗО е нивото на серопреваленция да бъде 70% (WHO, 2018b; Robardet, 2023; 2024).

Процентът на детекция на тетрациклин при таргетните популации е в рамките от 23 до 88% през 2021 г.; през 2022 г. варира между 25 и 95%, като 10 от 16 страни установяват минимум 70% ниво на тетрациклин, препоръчано от СЗО във връзка с ваксинацията по време на оралните кампании и приема на примамки, а през 2023 г. оралния маркер тетрациклин достига до 88% (WHO, 2018b; Robardet, 2023; 2024).

През 2021 г. 14 страни изпълняват ОВ срещу бяс – Босна и Херцеговина, Р. Северна Македония, Сърбия, Косово, Турция, Унгария, Полша, Хърватия, Естония, Финландия, Литва, Латвия, Молдова и Словакия. През 2022 г. 16 страни провеждат ОВ – Албания, Босна и Херцеговина, Хърватия, Естония, Финландия, Гърция, Унгария, Литва, Латвия, Молдова, Черна гора, Р. Северна Македония, Румъния, Полша, Словакия и Турция (вж. табл. 1).

На табл. 1 са представени данни за проведена ОВ срещу бяс при диви хищници в европейските страни, използвани ваксини и брой на разпространени примамки от въздуха с летателни апарати (самолети и хеликоптери) за периода 2019-2023 г. През 2023 г. Украйна провежда 2 кампании с мануална дистрибуция на ваксина Orsivac (Robardet and Cliquet, 2020; 2021); (Robardet, 2022;2023; 2024).

Шест държави от Западните Балкани – Сърбия, Р. Северна Македония, Албания, Босна и Херцеговина, Косово и Черна гора провеждат ОВ при лисиците срещу бяс на обща площ – 219.000 km². В тези 6 страни през 2019 г., 2021 г. и 2022 г. няма отбелязани случаи на бяс. През май 2020 г. е доказан положителен случай на бяс при куче на границата между Босна и Херцеговина и Сърбия в Сребреница, която е на 6 km от границата към Сърбия и на 30 km от последното огнище на бяс в Сърбия през 2018 г. (Cliquet et al., 2023). Страните от Западните Балкани много бързо стартират ОВ през 2010 г. с финансови средства от ЕС, които са спрени за пролетните кампании на 2023 г. В Сърбия и Косово през 2022 г. липсва ОВ при лисиците. Може да се отбележи, че провеждането на ОВ кампании срещу бяс при дивите хищници не е достатъчно, за да гарантира “свободния статус” на дадена страна. В страните от Западните Балкани индексът на пробовземане е твърде нисък и възлиза на 0,090 (Robardet and Cliquet, 2021). Поради този факт не може реалистично да се оцени епидемиологична-

та ситуация във връзка с беса в региона, въпреки че след 2010 г. случаите на бяс драстично са намалели. Необходимо е пасивният надзор да продължи и да се увеличи индексът на пробовземане до крайната фаза за ефективно елиминиране на последното огнище на бяс, съгласно Решение на ЕК/620/2021 (Cliquet et al., 2023).

През 2023 г. са използвани общо 28 933 495 примамки, които са разпространени над 1306,102 km² при плътност от 4 до 27 примамки/km² за една кампания (табл. 1). Може да се отбележи, че 8 от 18 страни (44%) са използвали оралната ваксината Lysvulpen, докато 6 от 18 страни (33%) – България, Хърватия, Гърция, Унгария, Латвия и Румъния, ваксината Rabadrop. Страните Естония, Финландия и Турция прилагат Rabitec, а Украйна – ваксина Orsivac, разпространявана мануално (Robardet, 2024).

От данните, представени на табл. 1, се вижда, че през 2021-2022 г. България не изпълнява ОВ при лисиците срещу бяс, което създава риск за реинфекция на зоонозата в страната. През последните няколко години в някои съседните държави се откриват значителен брой случаи на бяс. Това изисква сътрудничество с Румъния, Р. Северна Македония, Сърбия, Гърция и Турция, с оглед на създаването на буферни

зони в пограничните региони, както и продължаване на ОВ при прицелните животни в тези държави.

Национална програма за профилактика, надзор, контрол и ликвидиране на болестта бяс в България е разработена от БАБХ, одобрена с Решение на МС №156 от 18.03.2022 за периода 2022-2024 г. Програмата се изпълнява на територията на цялата страна и се основава на европейското законодателство на Европейския парламент (ЕП) и на Съвета на Европа (СЕ) в частта, свързана с здравеопазване на животните – Регламент (ЕС) 2017/625 последна версия от 22.01.2022 г. Методите се изпълняват, съгласно чл. 6 от делегирания Регламент (ЕС) 2020/689 на ЕК за допълнение на Регламент (ЕС) 2016/429 на ЕП и на СЕ по отношение на правилата за надзор, програмите за ликвидиране и статут „свободен от заболяване“ за някои болести от списъка и нововъзникващи болести, както и на националното законодателство за здравеопазване на животните, на основание чл. 118, ал. 3 от ЗВД и съответни наредби – Наредба № 4 от 2020 г. за надзор и мониторинг на зоонозите при профилактика, ограничаване и ликвидирането им с разработен контингент – план за зоонозата бяс.

Таблица 1. Орална ваксинация срещу бяс в Европа при диви хищници (EURL of Rabies, France)

Страна	2019	2020	2021	2022	2023
България	ОВ	ОВ	–	–	ОВ
Р.Сев. Македония	ОВ	–	ОВ	ОВ	ОВ
Сърбия	ОВ	ОВ	ОВ	–	–
Румъния	ОВ	ОВ	–	ОВ	ОВ
Гърция	ОВ	ОВ	–	ОВ	ОВ
Хърватия	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Черна гора	ОВ	ОВ	–	ОВ	ОВ
Косово	ОВ	–	ОВ	ОВ	ОВ
Словения	ОВ	–	–	–	–
Словакия	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Литва	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Латвия	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Естония	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Финландия	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Унгария	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Полша	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
БИХ	–	ОВ	ОВ	ОВ	ОВ
Молдова	–	–	ОВ	ОВ	ОВ
Турция	–	–	ОВ	ОВ	ОВ
Албания	–	–	–	ОВ	ОВ
Общо: страни с ОВ/ бр.разпространени примамки	16 страни/ 34 909 984	14страни/ 30 933 760	14страни/ 25 780 760	16 страни/ 34 713 546	18 страни/ 28 933 495
Използвани ваксини	Lysvulpen SPBNGasGas Fuschoral	Lysvulpen Rabitec	Lysvulpen Rabitec Fuschoral	Lysvulpen Rabadrop SPBNGas Fuschoral	Lysvulpen Rabadrop Rabitec Orsivac

ДАННИ ОТ КОНТРОЛА НА БЕСА В БЪЛГАРИЯ И В СЪСЕДНИТЕ СТРАНИ

През 2021-2023 г. в България, Гърция, Р. Северна Македония и Сърбия няма докладвани случаи на бяс при домашни и диви животни. В Румъния и Турция продължават да се регистрират голям брой инциденти на бяс.

В България ОВ срещу бяс при лисиците се провежда редовно от 2009 г. до 2020 г. (Ilieva et al., 2021). По финансови причини през 2021-2022 г. орални кампании през пролетта и есента не са изпълнявани. През 2021-2022 г. от територията на цялата страна по пасивен надзор са събрани и изследвани с метод DFAT 3136 мозъчни проби от домашни и диви животни, а през 2023 г. са тествани 806 мозъчни проби, при които не се доказва антигена на вируса на беса. За потвърждаване на негативния резултат от диагнозата с техника DFAT при 22 суспектни (домашни и диви) животни е използван метод TaqMan® RT-PCR (real-time) за детекция на *Lyssaviruses*. Във вирусологичното и молекулярното проучване са изследвани 5 екземпляра таргетни прилепи от разред *Chiroptera* с девиантно поведение, неврологична симптоматика и/или намерени умрели в природата (Ilieva et al., 2021; Илиева и сътр., 2024).

Във връзка с това, че в страните, с които граничим, се установяват случаи на бяс, в България е проведена 1 орална кампания през ноември 2023 г. и през 2024 г. ОВЛ в страната продължава да се изпълнява.

Липсата на редовни орални кампании създава риск от възвръщане на зоонозата в страната. Може да се отбележи, че поради нередовно изпълнение на ОВЛ в България процентът на серопреваленция и на детекция на биомаркер тетрациклин при лисиците се понижават.

ДИАГНОСТИКА НА ЗАБОЛЯВАНЕТО БЯС

Вирусът на беса се идентифицира чрез директен флуоресцентен антиядлов тест (DFAT) и директен бърз имунохистохимичен тест (DRIT) в лаборатории, където липсва флуоресцентен микроскоп. Използва се материал от ЦНС от различни части на мозъчната тъкан – brain stem, Ammon's horn, thalamus, cerebral cortex, cerebellum и medulla oblongata (OIE, Terrestrial Manual, 2018). Хистологичната идентификация за откриване на негриевите телца в мозъчни тъкани, включени в парафин с последващо изготвяне на срезове, оцветени по техниката на Mann изисква повече време за изпълнение. Може да се отбележи, че в по-ранни изследвания, проведени от Runnells и съавт. (1965), е установено, че при 25% от случаите на болни от бяс животни телцата на Негри липсват, а при 75%, т.е. в повечето случаи, те са малко на брой и могат

да не се забележат, което прави техниката по-ниско чувствителна в сравнение с DFAT и DRIT. Методът на Seller с нефиксирани натривки от мозъчна тъкан е много по-чувствителен, но е подходящ за изследване на свежи тъкани и затова хистологичните методи за откриване на Негриевите телца не се препоръчват за рутинна диагностика. Изпълнението на техника DFAT за идентификация на антигена на вируса на беса с включване на подходящ конюгат, както и прилагането на молекулярни методи – конвенционална PCR и RT-PCR (в реално време), като потвърдителни методи осигурява бързи и възпроизводими резултати в 98-100% от случаите за всички щамове на *Lyssaviruses* с праймери/сонди и специално оборудване. Характеризирането на агента се провежда в специализирани лаборатории, използват се моноклонални антитела, провежда се частична или пълна геномна секвенция чрез филогенетичен анализ. Използваните техники могат да различат теренен от ваксинален щам и да идентифицират географския ареал и произхода на теренните щамове. През последните 1-2 години се дистрибутират имунохроматографски тестове, т.нар. Lateral flow assays (LFAs), които са по-малко ефикасни за детекция на антигена на вируса на беса (Robardet and Cliquet, 2021). Бързите тестове са с променлив резултат и не се препоръчват за надзор и официален контрол на заболяването (WHO, Technical Report, 2018). По тази причина валидацията на LFAs е важно условие преди тяхната употреба в лабораториите, освен това те не могат да заместят понастоящем препоръчаните референтни техники от (OIE; WHO, 2018). Ето защо DFAT е „златният стандарт“ за детекция на вирусите на беса и е най-широко използваният метод, препоръчан от СЗО и OIE, с чувствителност и специфичност между 96 и 99% и получаване на резултата за по-малко от 2 часа. Чувствителността на метода зависи от типа на пробата и степента на автолизата (Barrat and Aubert, 1995). DRIT може да се използва като алтернатива на DFAT в рутинната лабораторна практика и има подобна чувствителност и специфичност (Lembo et al., 2006). Принципът на DRIT теста е чрез използване на стрептавидин-биотин пероксидазно оцветяване на препаратите (Coetzer et al., 2014; Madhusudana et al., 2012; Rupprecht et al., 2014). Основните антитела трябва да бъдат валидирани за специфичност и чувствителност за детекция на различните *Lyssaviruses*. Използваните потвърдителни тестове като миши инокулационен тест (МИТ), изолация в КК и др. все повече отстъпват по чувствителност и специфичност на молекулярните методи. При използване на heminested PCR метода за детекция на б генотипа на Rabies и Rabies-related viruses някои автори (Heaton et al., 1997) установяват, че DFAT открива RABV-Genotype 1 в мозъчна тъкан, която

то е инкубирана на 37° С при и след 72-рия час, докато hnRT-PCR открива вирусна RNA в мозъчна тъкан, която е инкубирана на 37° С за 360 часа. Също така от 60 изолата 93% (56 от 60) са позитивни с PCR, докато всички останали изолати са открити с по-чувствителните методи heminested PCR и Southern blot hybridization.

Robardet (2024) докладва, че през 2023 г. във връзка с надзора на беса чрез техника DFAT са идентифицирани всичко 1359 позитивни случая от общо 35 693 (0,04%) като в ЕС с DFAT са идентифицирани 77 случая от 30 169 (0,003%). При използване на RT методологията най-много лаборатории прилагат специфична TaqMan техника (8/17), 5 лаборатории прилагат техника SybrGreen, 2 – LN34 Pan Lyssavirus техника, и 2 лаборатории използват комбинации от споменатите по-горе техники. Три лаборатории (вкл. една от ЕС) използват МИТ за диагностика на беса. Методът RTCIT, в който се използват клетъчни култури, най-много се прилага в страните от ЕС. По-хуманни причини се препоръчва МИТ да се замени с другите потвърдителни тестове препоръчани от OIE (2018).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Animal diseases information system. ADIS.2021
2. Badrane, H., C. Bahloul, P. Perrin, N. Tordo. Evidence of two lyssavirus phylo-groups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.*, 2001, 75, 3268-3276.
3. Barrat, J., Aubert M.F.A. (1995). Diagnostic de la rage animale en France de 1991 à 1993, bilan de Ceneva laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages en France. *Revue Méd. Vét.*, 146, 561– 566.
4. Cliquet, F, I.Lohman, Z. Bago, G. Duscher, E. Nakova and T. Kirandjiski. On the way to rabies elimination in the Western Balkan countries. 14th Workshop for rabies, EURL for rabies-21-22 June, 2023, Ljubljana.
5. Coetzer A., Sabeta C.T., Markotter W., Rupprecht C.E. & Nell.H. (2014). Comparison of biotinylated monoclonal and polyclonal antibodies in an evaluation of a direct rapid immunohistochemical test for the routine diagnosis of rabies in southern Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 8, e3189.
6. European Commission (2002). The oral vaccination of foxes against rabies. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. 55p.
7. Heaton P.R., Johnstone P., McElhinney L.M., Cowley R., O'Sullivan E., Whitby J.E. (1997). Heminested PCR assay for detection of six genotypes of rabies and rabies-related viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 35, 2762–2766.
8. Lembo T., Niezgodna M., Velasco-Villa A., Cleaveland S., Ernest E., Rupprecht C.E. (2006). Evaluation of a direct, rapid immunohistochemical test for rabies diagnosis. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 310–313.
9. Madhusudana S.N., Subha S., Thankappan U., Ashwin Y.B. (2012). Evaluation of a direct rapid immunohistochemical test (dRIT) for rapid diagnosis of rabies in animals and humans. *Virol. Sin.*, 27, 299–302.
10. Rabies-Bulletin-Europe (RBE) – Rabies Information System of the WHO, 2019.
11. Robardet, E and F.Cliquet. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2019, August 2020, Page 1/18.
12. Robardet, E and F.Cliquet. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2020, July 2021, Page 1/18.
13. Robardet, E. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2021, June 2022, Page 1/21.
14. Robardet, E. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2022, June 2023, Page 1/18.
15. Robardet, E. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2023, July 2024, Page 7/23.
16. Rupprecht C.E., Cliquet F., Fehlner-Gardiner C., Fooks A.R., Mueller T., Sabeta C. & Slate D. (2014). Progress in the development of a direct rapid immunohistochemical test for diagnosing rabies. *OIE Bulletin*, No. 3, 87–95.
17. Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) (2015). Update on oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies. *EFSA Journal*. 70p.
18. Smreczak, M., Orłowska, A., Trębas, P., Stolarek A, Freuling, C, Müller T. Re-emergence of rabies in Mazowieckie Voivodeship, Poland, 2021. *Zoonoses Public Health.. Zoonoses Public Health*. 2022;(March 2022):111–6.
19. Smreczak, M. Re-emergency of rabies in Mazowieckie region, Poland, 2021. 13th Workshop for Rabies-15-16 June, 2022, Warsaw, Poland, p. 8.
20. The Global Framework for the Progressive Control of Transboundary Animal Diseases (GF-TADs) Strategy for 2021-2025.
21. Vuta, V. Rabies in Romania.15th Workshop for Rabies, 5-6 June, 2024, Wien.
22. WHO (2018a). Laboratory techniques in rabies. 5th edition ed, Edited by Charles E. Rupprecht, Anthony R. Fooks, Bernadette Abela-Ridder, Geneva. 289p.
23. WHO (2018b). WHO Expert Consultation on rabies. Third report. World Health Organization technical report series 1012. Geneva. 183p
24. WOAHP Terrestrial Manual, 2023. Chapter 3.1.19 – Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses, т.1.3.3
25. World Organisation for Animal Health. First oral rabies vaccine for dogs. WOAHP – Bulletin, March 27, 2023, Germany.