

Спешна вакцинация и поствакцинален мониторинг при шапа

Доц. д-р Янко Иванов, д-р



Спешна ваксинация и поствакцинален мониторинг при шапа

Доц. д-р Янко Иванов, д-р





Център за оценка на риска по хранителната верига



corhv.government.bg



corhv@mzh.government.bg

© Център за оценка на риска по хранителната верига

София, 2022

ISBN: 978-619-7509-12-0

1. ВЪВЕДЕНИЕ.....	7
2. ИЗБОР НА СТРАТЕГИЯ ЗА БОРБА С ШАПА.....	12
2.1 „Stamping out“.....	13
2.2 „Stamping out“ в комбинация със спешна ваксинация.....	13
3. ВИДОВЕ ВАКСИНИ И ТЯХНОТО ПРИЛОЖЕНИЕ.....	17
3.1 Видове ваксини.....	18
3.2 Избор на ваксинален щам в зависимост от съответствието (степената на хомоложност с терения щам).....	19
3.3 Критерии за качество на ваксината.....	19
3.3.1 Изисквания към производствения процес.....	20
3.3.1.1 Контрол върху вируса за производство на ваксината.....	20
3.3.1.2 Метод на производство.....	20
3.3.1.3 Контроли в процеса на производство.....	21
3.3.1.4 Окончателен партиден тест.....	21
3.3.2 Изисквания към процеса на регистрация на ваксините.....	22
3.3.2.1 Производствен процес.....	22
3.3.2.2 Изпитване на безопасността на ваксината върху целеви животни.....	22
3.3.2.3 Имуногенност.....	22
3.3.2.4 Тестване на ваксината по отношение на NSP.....	23
3.3.2.5 Продължителност на имунитета (DOI).....	23
3.3.2.6 Стабилност.....	23
3.4 Ефективност на ваксината.....	23
3.4.1 Ретроспективно проучване на ефективността на кохортната ваксина.....	24
3.5 Съображения при закупуване на ваксината.....	27
3.5.1 Закупуване на ваксини чрез тръжна процедура.....	28
3.5.2 Доставка на ваксини от оферента.....	30



3.6 Контролен списък за избор на ваксина.....	30
4.ВАКСИНАЦИЯ.....	31
4.1 Цели на ваксинацията.....	34
4.2 Видове ваксинации и тяхното приложение.....	35
4.2.1 Масови профилактични ваксинации.....	37
4.2.2 Математика на масовата ваксинация.....	38
4.2.3 Спешна ваксинация (Emergency vaccination).....	41
4.2.4 Критерии за успех на спешната ваксинация.....	46
4.2.5 Дилемата за и против спешната ваксинация срещу шап.....	47
5.ПОСТВАКСИНАЛЕНМОНИТОРИНГ.....	51
5.1 Оценка на имунния отговор след ваксинацията.....	53
5.2 Използване на серологични методи за постваксинален мониторинг.....	58
5.2.1 Имунен отговор срещу структурните протеини на вируса.....	58
5.2.2 Корелация между титъра на антителата срещу структурните протеини на вируса и нивото на защита.....	60
5.2.3 Имунен отговор към неструктурните протеини.....	62
5.3 Малък по мащаб опит за оценка на качеството на ваксината.....	63
5.3.1 Протокол за провеждане на ваксинацията и вземане на кръвни проби.....	64
5.3.2 Изпитване на антителния отговор при ваксинираните животни.....	65
5.3.3 Интерпретация на резултатите.....	66
5.4 Оценка на имунните отговори при ваксинирани животни в полеви условия.....	69
5.5 Постваксинален мониторинг за оценка на имунитета на популационно ниво.....	74
5.5.1 Пост-ваксинален мониторинг за оценка на популационния имунитет на ниво индивидуално животно.....	80
5.5.2 Пост-ваксинален мониторинг за оценка на популационния имунитет на ниво стадо.....	83

5.6 Контролен списък за мониторинг на поствакциналния имунитет.....	85
5.7 Мониторинг на въздействието от ваксинацията и другите мерки за контрол на шапа.....	89
5.7.1 Мониторинг на обхвата на ваксинацията.....	90
5.7.2 Ефективност и ефикасност на ваксините.....	93
5.7.3 Изследване огнищата на шап при ваксинирани животни.....	96
5.7.4 Ефективност на програма за контрол на шапа.....	98
6.СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ ЗА ПЛАНИРАНЕ НА ТЕРЕННИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ НА ПОПУЛАЦИОННИЯ ИМУНИТЕТ.....	98
6.1 Оценка на дела на животните от популацията, притежаващи имунитет срещу вируса на шапа чрез обикновена средна проба.....	102
6.2 Оценка на дела на животните от популацията, притежаващи имунитет срещу вируса на шапа чрез двуетапно произволно вземане на проби...	107
6.3 Мониторинг на поствакциналния имунен отговор на популационно ниво.....	114
7.ПЛАН ЗА СПЕШНА ВАКСИНАЦИЯ ПРОТИВ ШАП.....	117
7.1 Цели, задачи и обхват на плана.....	118
7.2 Управление на ваксинационната кампания.....	121
7.3 Логистика.....	123
7.4 Персонал.....	124
7.5 Биосигурност.....	126
7.6 Наблюдение.....	126
7.7 Идентификация и регистрация на животните.....	127
7.8 Контрол върху придвижването.....	128
7.9 Наблюдение и оценка на ваксинацията и стратегия за изход.....	129
7.9.1 Изпълнение на ваксинационната програма (доказателство, че ваксинацията е извършена добре).....	131
8.КОМУНИКАЦИОННА СТРАТЕГИЯ.....	137
9.ДИАГНОСТИЧНИ ЛАБОРАТОРНИ МЕТОДИ.....	138
10.ПРИЛОЖЕНИЯ КЪМ ПЛАНА ЗА СПЕШНА ВАКСИНАЦИЯ	142



Приложение 1: Ключова информация, която трябва да се предостави от участника в търга и производителя на ваксината.....	142
Приложение 2: Искане за изготвяне на ваксина срещу шап от антигенните запаси в антигенната банка на ЕС.....	144
11. Литературен указател.....	150

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Шапът е едно от най-контагиозните вирусни заболявания по чифтокопитните животни, с потенциал за опустошителни икономически, социални и екологични въздействия, които се дължат не само на високата заболяемост и смъртност, но и на косвените загуби в резултат на ограничителните мерки за търговията с животни и животински продукти, нарушените транспортни и икономически връзки до ликвидиране на огнищата. Известни са и други видове животни, принадлежащи към различни таксономични разреди, които са възприемчиви към инфекция с вируса на шапа. Тяхното епидемиологично значение обаче е не толкова голямо и зависи главно от степента на възприемчивост, от системата на отглеждане, от гъстотата и обхвата на популациите и от контактите между тях. Сред камелидите например само двугърбите - бактрийските камили (*Camelus bactrianus*) са достатъчно податливи, за да имат потенциално епидемиологично значение, докато едногърбите - дромедарите (*Camelus dromedarius*), не са податливи на инфекция с шапен вирус, а южноамериканските камелиди не се считат за епидемиологично значими.

Шапът се причинява от вирус, принадлежащ към род *Aphthovirus* на семейство *Picornaviridae*. Понастоящем са известни 7 серотипа на вируса на шапа (O, A, C, SAT 1, SAT 2, SAT 3 и Asia 1) и над 65 субтипа, между които не се наблюдава кръстосан имунитет. Най-висока степен на вариабилност е установена при серотип А, който има 32 субтипа, серотип О – 11 субтипа, тип С – 5, Азия 1 – 3, SAT 1 – 7, SAT 2 – 3 и SAT 3 – 4. Освен изброените субтипове са установени и голям брой антигенни варианти в рамките на отделните субтипове.

Вирионът на шапния вирус е с кубична симетрия и диаметър около 23 - 25 nm. Капсидът е с икосаедрална форма и е изграден от 60 белтъчни единици, наречени капсомери, всеки от които е съставен от 4 протеина – 1D (VP 1), 1B (VP 2), 1C (VP 3), 1A (VP 4) и 3D (P56a). Те произхождат от един общ полипротеин, който впоследствие се разцепва с помощта на протеазен ензим.

Вирусният геном се състои от едноверижна, несегментирана инфекциозна РНК (+) с големина 8.4 Кб. Този тип вируси използват



собствената си РНК като иНК по време на репликацията си в гостоприемниковата клетка. Нуклеиновата киселина на шапния вирус притежава дълъг около 600 до 1200 бази нетранслиран регион в 5' края на веригата, който има отношение към трансляцията, вирулентността и вероятно енкапсидирането. По-късия 3' нетранслиран регион (50 – 100 бази) е важен за синтеза на (-) верига на вирусната нуклеинова киселина.

В 5' края на вирусната РНК се намира детелиноподобна вторична структура, известна като IRES (*internal ribosomal entry site*). В тази част е прикачен чрез ковалентна връзка и един малък базисен протеин VPg (3B). Останалата част от генома кодира синтеза на общия полипротеин. В 3' края на веригата се намира т. нар. полиаденилова “опашка”, подобно на мРНК при еукариотните организми.

Трансляцията на вирусната РНК в гостоприемниковата клетка започва със захващане на 5' метилирания край на НК и сканиране на цялата нуклеотидна верига, докато бъде достигнат AUG инициращия кодон. При вируса на шапа обаче този процес е усъвършенстван благодарение на наличието на IRES структура, която позволява директно свързване с рибозомите и инициране синтеза на вирусния полипротеин без необходимост от сканиране на цялата нуклеинова верига.

Синтезираният вирусен полипротеин, впоследствие се разцепва под действието на вирусна протеаза на общо 12 протеина, 4 от които изграждат вирусния капсид – 1A (VP4), 1B (VP2), 1C (VP 3) и 1D (VP1). С изключение на 1A, останалите 3 протеина са разположени по повърхността на капсида и определят антигенните свойства на вируса и са отговорни за прикрепването му към хепарин сулфат протеогликановите рецептори на гостоприемниковата клетка. Неструктурните протеини - NSP (L pro, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C pro и 3D pol) представляват в по-голямата си част ензими и имат конкретни функции при вирусната репликация.

Инфектираният организъм в отговор на репликацията на вируса, реагира с образуването на антитела, както срещу структурните, така и срещу неструктурните протеини на вируса на шапа, за разлика от ваксинираните животни, при които се образуват антитела само срещу структурните протеини. Това има важно значение за

диференцирането на преболедувалите от ваксинираните животни.

В епизоотично отношение шапът е типична панзоотия. Разпространява се с бързи темпове, като обхваща за кратко време обширни територии, непризнавайки държавни граници. Фактът, че отделните вирусни серотипове не се покриват при кръстосана имунизация, затруднява до голяма степен борбата със заболяването в световен мащаб. В последните години все по-голямо значение в епизоотологията на заболяването се отдава на скритото вирусоносителство при животните – т.нар. “*carrier status*”. По дефиниция за такъв се говори, когато инфекциозен шапен вирус или неговият геном могат да бъдат установени в езофаго-фарингеален секрет (*OP fluid*) след 28-мият ден от датата на заразяването/инфекцията. Персистиращата инфекция може да бъде в резултат от клинично или субклинично преболедуване, но също така може да се появи в резултат на инфектиране след ваксинация, като периодът на носителство варира при различните видове животни от 9 месеца при овце и кози, 24 - при преболедували говеда до над 5 години - при африканския кафарски бивол (*African buffalo*).

Огнище на шап следва да се обяви съгласно дефиницията на ЕК (*EU Commission Case Definition 2002*), когато стопанството отговаря на един или повече от следните критерии:

1. Вирусът на шапа е изолиран от едно животно или от някой продукт, произхождащ от това животно или от средата, която то обитава;
2. Наблюдават се клинични симптоми, съответстващи на шап в животно от възприемчив към заболяването вид и е установен и идентифициран вирусен антиген или вирусна нуклеинова киселина, специфични за един или повече серотипове на вируса на шапа в проби от животното или неговата кохорта.
3. Наблюдават се клинични симптоми, съответстващи на шап в животно от възприемчив към заболяването вид и животно или животни от неговата кохорта са положителни за наличието на антитела срещу структурните и неструктурните протеини, при условие, че предишна ваксинация, остатъчни количества от майчини антитела или каквито и да било неспецифични реакции са изключени като възможна причина



- за серопозитивността им;
4. Вирусен антиген или вирусна нуклеинова киселина, специфични за един или повече серотипове шапен вирус са установени и идентифицирани в проба, взета от животно от възприемчив към болестта вид и животните са положителни за наличие на антитела срещу структурните или неструктурни протеини на вируса на шапа, при условие, че в случай на наличие на антитела срещу структурните протеини, е изключена предишна ваксинация, остатъчни количества от майчини антитела или някакви неспецифични реакции като възможна причина за серопозитивността ;
 5. Установена е епизоотологична връзка с доказано огнище на шап и поне едно от следните условия са налице:
 - Едно или повече животни са положителни за антитела срещу структурните протеини на шапния вирус, при условие че е изключена като причина за серопозитивността предишна ваксинация, остатъчни количества от майчини антитела или каквато и да било неспецифична реакция;
 - Установен и идентифициран е вирусен антиген или вирусна РНК, специфични за един или повече серотипа шапен вирус в проби, взети от едно или повече животни от възприемчив вид;
 - Има серологични доказателства за активна инфекция от шап, установени чрез доказване на сероконверсия (покачване на титрите на антитела срещу структурните или неструктурните протеини на шапния вирус от отрицателни до положителни) при едно или повече животни от възприемчивите видове и когато е изключена като възможна причина за серопозитивността предишна ваксинация, остатъчни количества от майчини антитела или някакви неспецифични реакции.

Забележка. Когато не може да се очаква предварителен серонегативен статус, доказването на сероконверсия трябва да се основава на резултатите от повторни проби, взети два или повече пъти с интервал от поне 5 дни в случая със структурните протеини и поне 21 дни в случая с неструктурните протеини на вируса.

Въпреки постигнатите успехи през последните десетилетия в борбата с шапа в Европа, болестта остава ендемична в много страни от Азия, Африка и Близкия изток, а това представлява риск от проникването ѝ отново във вече свободни от болестта държави. Има големи разлики в напредъка на отделните държави по пътя им към ликвидиране на болестта и придобиване на статут „свободни от шап“. Някои вече са придобили този статут или са на път да го постигнат, то други са на съвсем ранен етап в контрола на болестта.

В арсенала от мерки за борба с шапа, ваксинацията безспорно е един от важните инструменти, когато ваксината е качествена и се прилага правилно. Затова е необходима актуална информация за циркулиращите вирусни щамове, с оглед избора на подходящи ваксинални щамове.

Изборът и успешното прилагане на подходящата ваксина и ваксинационна програма при шапа се влияят от много динамични фактори, включително:

- разнообразието от серотипове и подтипове на вируса, които трябва да бъдат контролирани;
- характеристиките и стабилността на ваксините;
- широкия диапазон от възприемчиви животински видове и разнообразните технологии на отглеждане;
- целите и задачите на ваксинацията;
- продължителността и нивото на постваксиналния имунитет, и
- разработването и прилагането на програма за ваксинация и за постваксинален мониторинг.

Малко вероятно е обаче ваксинацията да успее, ако не е подкрепена от други допълнителни мерки за контрол. Затова целият процес на подбор на ваксини и схема на ваксинация, трябва да бъде непрекъснато наблюдаван и оценяван, за да се гарантира, че той



изпълнява своите цели и допринася за устойчив контрол на шапа.

Могат да се използват различни подходи за ваксинация въз основа на конкретните епизоотични ситуации и цели.

Настоящото ръководство има за цел да изложи и обясни различните опции за избор на ваксини и стратегия за ваксинация, както и на стъпките за оценка на ефективността на програмите за ваксинация (постваксинален мониторинг).

2. ИЗБОР НА СТРАТЕГИЯ ЗА БОРБА С ШАПА

Стратегията може да се дефинира, като декларирано намерение за начина и средствата за постигане на определена цел (предотвратяване, ограничаване и/или ликвидиране на болестта), обикновено в дългосрочен план, чрез ефикасно и ефективно използване на наличните ресурси. Тя обикновено включва два взаимно свързани процеса: формулиране и изпълнение;

- **Формулирането** започва с анализ на епизоотичната ситуация и формулиране на целите и възможните пътища за постигането им;
- **Изпълнението** се отнася до привеждането в действие на плана за реализиране на целите и задачите според избрания начин.

Въпреки че изкореняването на шапа е желаната крайна цел, в някои случаи тя е непостижима поради комплексността на ситуацията.

Превенцията, контрола и изкореняването на заразните болести са три категории мерки, използвани за профилактика и борба със заразните болести по животните:

- **Превенцията** се отнася до мерките за предотвратяване на болестта, вкл. излагането на животните на риск от заразяване;
- **Контролът** се отнася до мерките за ограничаване и намаляване честотата на проявление на болестта до приемливи нива, които сме в състояние да контролираме; и
- **Изкореняване**, се отнася до мерките за окончателното елиминиране на болестта и/или на причинителя ѝ от дадена

популация или район за определен период от време.

2.1. „Stamping out“

Stamping-out е умъртвяване на всички клинично болни и контактни животни от възприемчивите видове (както ваксинирани, така и неваксинирани). Трупозете на умъртвените животни се изключват от хранителната верига и се унищожават чрез изгаряне, загробване или по друг начин, гарантиращ тяхното обезвреждане, а помещенията и местата, в които са държани животните, се почистват и дезинфекцират. *Stamping-out* е признат и доказан метод за бързо ликвидиране на възникнало огнище на екзотична болест по животните, чиито основни елементи са:

- Определяне на инфектираната зона;
- Интензивен надзор на заболяването, с цел идентифициране на заразените, контактните и застрашените стопанства или селища в тези зони;
- Налагане на карантина и ограничения за придвижването на животни от, към и през засегнатия район;
- Незабавно умъртвяване на всички възприемчиви животни в заразените и контактните стопанства или в цялата заражена зона;
- Безопасно унищожаване на трупозете на умрелите и принудително умъртвените животни, както и на други потенциално заразени материали като тор и торова постеля, фураж, мунициии, малоценни и малотрайни предмети и т.н.;
- Дезинфекция и почистване на заразените помещения и прилежащите им площи;
- Поддържане на тези помещения обезлюдени от възприемчиви животни за подходящ период от време.

2.2. „Stamping out“ в комбинация със спешна ваксинация

Решението дали и кога да се прибегне към ваксинация при появата на шап е винаги дискуссионно, поради което предимствата, недостатъците и ограниченията свързани с приложението на ваксина следва внимателно да се преценят в контекста на конкретната



ситуация, възможните изходи от нея и социално икономическите последици.

Използването на ваксинация не е без последици от рода на ограничения в придвижването и търговията с животни и животински продукти, произхождащи от ваксинирани животни или техните кохорти и те са свързани главно с:

- проблеми с вирусносителството у ваксинираните животни;
- проблеми за разграничаване на ваксинираните от инфектираните животни;
- ефикасността и бързината при прилагане на спешните ваксинации.
- необходимостта от провеждането на редица изследвания за придобиване на статут на популацията „свободна от болестта“.

Продължителността на ограничителните мерки може значително да се съкрати, ако ваксинацията е съчетана с ефективна система за постваксинален мониторинг и контрол.

Опорочаване на ефекта от ваксинацията се наблюдава обикновено, когато програмата за ваксинация причинява повече проблеми отколкото решава, а това често се случва, когато броят на ваксинираните животни е малък и това позволява на инфекцията да се разпространява по-бавно отколкото в неимунни популации.

В случай, че се вземе решение за ваксинация, задължително трябва да се изготви и изходяща стратегия, която да укаже продължителността и условията за прилагането и прекратяването ѝ, както и на мерките за надзор.

За контрол на болестите за които съществуват ваксини, каквато е шапа, решението следва да се вземе на базата на анализ на съотношението полза-риск, като се отчитат динамиката и тежестта на епизоотичната обстановка, икономическите и социалните последици.

Стратегията за борба с шапа чрез *stamping out* в комбинация със спешна ваксинация може да се опише, като забрана за използване на превантивни масови ваксинации, а в случай на поява на болестта, се прилага “*stamping-out*” в комбинация с другите общопрофилактични мерки и на частична принудителна ваксинация.

Както е описано по-горе, целта на стратегията за борба с шапа може да бъде или намаляване на клинично проявените случаи на заболяване, или изкореняване на инфекцията и възстановяване на статута на държавата, като свободна от шап. Ясно е, че за всяка от тези стратегически цели има ясно определен резултат, който трябва да бъде постигнат от самото начало.

За да има яснота и с цел установяване на базови критерии преди началото на програма за контрол е важно тези, които изпълняват и/или тези, които наблюдават програмата, да могат да оценят обективно дали целите, определени в началото, са постигнати. В съответствие с международните стандарти, в настоящото ръководство са използвани дефинициите за случаи на шап, инфекция и циркулация на вируса, които са в съответствие с Кодекса на ОИЕ за сухоземните животни.



Таблица 1: Стратегическа цел на програмата за контрол и индикатори за успех

Категория	Стратегическа цел на програмата за контрол	Състояние в началото на изпълнението		Очакван резултат	Критерии за успех	Коментар
		Вирусна циркулация	ОИЕ статут			
A	Редуциране на брой нови случаи	В посочените отделни места	Не свободни	Обикнове но за Етап 2	Снижение на новите случаи заболяване	Приемливо ниво на заболяванията е приложимо ако стартирало приемливо ниво не е известно
B	Прекратяване циркулацията на вируса	С или без докладвани случаи на заболяване	Не свободни	Обикнове но за Етап 3	Снижение на вирусната циркулация	Приемливо ниво на циркулацията е приложимо ако стартирало приемливо ниво не е известно
C	Запазване на статута „свободна от болестта“ с ваксинация	Отсъства и доказателства от приети от ОИЕ	„Свободна от болестта“ с ваксинация	Типично за Етапи 4 и 5	Достатъчно доказателства за запазване статута „свободна от шап“. Няма открита циркулация на вируса.	Аргумент за ваксинация. Ако се яви шап в благоприятен термин, ще бъде изпитване при изпитване на ваксини отколкото отколкото статут, свободен от болестта без ваксини.
D	Възстановяване на статута след случай с приложена спешна ваксинация	Поява огнище на шап в свободна зона или държава	Статут свободна от шап зона или държава отчет	Предполагам Етап 4 или 5	Достатъчно доказателства за потвърдени е отсъствие циркулация на вируса	Изпълнени изискванията на ОИЕ Кодекса за възстановяване на статута

3. ВИДОВЕ ВАКСИНИ И ТЯХНОТО ПРИЛОЖЕНИЕ

В състава на ваксината могат да бъдат включени един или повече различни серотипове и щамове на вируса на шапа и качеството на ваксините да варира значително. Изборът на подходяща ваксина по отношение на качеството и характеристиките на щама е предпоставка за успешна програма за ваксинация, без която всички други усилия ще бъдат напразни.

Регулаторните органи в различните държави са разработили различни подходи за гарантиране качеството на ваксините. Въпреки че са сходни по своята крайна цел, те могат да се различават по акцента, който придават на контрола на производствения процес и тестването на крайния продукт. Когато е възможно, ваксините трябва да се произвеждат в съответствие с добрите производствени практики (GMP). Въпреки това, тъй като GMP не се прилага универсално от производителите, нито е задоволително регулирано, а дори не се изисква от всички национални органи, се препоръчва при липса на надеждни системи за GMP, производството и тестването на ваксините срещу шап да бъдат в съответствие със стандартите на ОИЕ (Принципи на производството на ветеринарни ваксини и по специално ваксина срещу шап от Ръководството на ОИЕ за диагностични тестове и ваксини за сухоземни животни (Наръчник за сухоземните животни) (44) и съответните национални стандарти, включително изисквания за фармакопея.

Изборът на ваксинални щамове трябва да се основава на познаване на заплахите от вирусите, циркулиращи в региона. Ако не са известни, може да се потърси съвет от регионални и международни референтни лаборатории. Редовното събиране на локално циркулиращи вируси и предаването им за типизиране в референтните лаборатории ще допринесе за получаване на възможно най-точната информация. Ако приемем, че са избрани правилните ваксинални щамове, трябва да се следи качеството на ваксината.



3.1. Видове ваксини

Ваксиналният вирус обикновено се размножава в клетки от постоянната клетъчна линия от бърбреци на хамстер (ВНК), след което вирусната суспензията се пречиства чрез филтриране или центрофугиране за отстраняване на клетъчните остатъци и се инактивира с бинарен етиленимин (BEI). След инактивирането вирусният антиген може да се концентрира чрез утаяване, ултрафилтрация или комбинация от двете, но също така може да се използва и директно без допълнителна обработка. Процесите на концентриране също включват допълнително пречистване на антигена чрез намаляване съдържанието на неструктурните протеини (NSPs). Използването на пречистени ваксини подобрява разграничаването на заразените от ваксинираните животни (DIVA). Концентрирането и пречистването на вирусния антиген може да доведе до загуба на антигенна маса, която може да се нуждае от корекция в зависимост от необходимата сила на ваксината.

В зависимост от вида на адюванта, ваксините могат да бъдат във водна или маслена форма. Заготовката на водните ваксини срещу шап включват гел от алуминиев хидроксид и сапонин като адюванти. Маслените ваксини се предлагат в два вида: единична емулсия, вода в масло (W/O); и вода в масло във вода (W/O/W), известна също като двойна маслена емулсия (DOE). Водните ваксини обикновено се използват при говеда, овце, кози и биволи, но не са ефективни при свине. Маслените ваксини се използват при всички видове. Например, W/O ваксините се използват рутинно при едрия рогат добитък в Южна Америка, а W/O/W ваксините се използват рутинно при прасетата в Азия.

3.2. Избор на ваксинален щам в зависимост от съответствието (степената на хомоложност с терения щам)

Принципите и наличните методологии за избор на ваксинални щамове за производство на противошапна ваксина са описани подробно в Наръчника на ОИЕ за сухоземни животни (44). Тъй като имунитетът към вируса на шапа (FMDV) е специфичен за всеки серотип и дори в рамките на отделните серотипове, кръстосаната защита между щамовете може да бъде непълна, целта е да се избере ваксина, която включва един или повече ваксинални щамове, които са в състояние да индуцират защитен имунитет срещу заплахата или заплахите от един или повече циркулиращи на терена вирусни щамове. Идеалната ваксина ще осигури широк спектър от защита срещу множество заплахи. Количеството антигенна вариация е по-голямо за някои серотипове от други. Дали ще могат да бъдат предизвикани защитни нива на имунитет, ще зависи от три основни променливи фактора: (i) ефикасността на ваксината; (ii) антигенната близост между ваксиналния щам и терения щам; и (iii) схемата за ваксинация (31).

Например, една силна, мощна ваксина може да осигури кръстосана защита срещу широк спектър от различни щамове и да даде относително дълготраен имунитет след еднократна доза на приложение. За разлика от това, ваксина с ниска сила ще индуцира антигенно тясна и краткотрайна защита, но, ако има втори кръг от ваксинация, един месец след първата доза, като се има предвид повишаването на антителата, ще допринесе за по-широка и по-дълготрайна защита. Тежестта на предизвикателството може също се различава според системата на отглеждане и плътността на възприемчивите животни.

3.3. Критерии за качество на ваксината

В програмите за контрол на шапа с ваксинация, качеството на използваните ваксини, съчетано с правилния подбор на вирусните щамове, са от изключително значение. Гарантирането на качеството на ваксините трябва да бъде направено от производителите на



ваксините, като се придържат към предписаните стандарти в Наръчника за сухоземни животни на ОІЕ. Стъпките, посочени в ръководството, които трябва да се следват в производствения процес, са обобщени по-долу:

3.3.1. Изисквания към производствения процес

3.3.1.1. Контрол върху вируса за производство на ваксината

Вирусът, използван за производство на ваксината, трябва да бъде напълно характеризирани и с известен произход. Следователно той трябва да е получен от надежден източник, като например Световната референтна лаборатория или референтна лаборатория на FAO/OIE. Изходната вирусна маса за производството на ваксината (MSV) трябва да е доказано чиста и да не съдържа примеси и външни агенти. Когато на терена се появи нов щам, който не съвпада с наличните ваксинални щамове и създава опасност от по-нататъшно разпространение, може да се вземе решение за разработване на нов ваксинален щам от полевия изолат, който е с по-висока степен на хомоложност. Използването му в полеви условия, когато пълното тестване не е завършено, може да бъде разрешено при спешни случаи, но рисковете трябва да бъдат внимателно оценени, като например опасност от външно замърсяване на антигена, произведен от новия MSV.

3.3.1.2. Метод на производство

Процесът на размножаване на вируса за производство на антиген в суспензионни или монослойни култури трябва да бъде прецизно документиран, включително и процеса на инактивиране на вируса, неговата концентрация, пречистване и крайната формулировка на ваксината с маслен адювант или алуминиев хидроксид и консерванти. Целият производствен процес има критични контролни точки, които трябва надлежно да бъдат отразени.

3.3.1.3. Контроли в процеса на производство

- Скоростта и линейността в процеса на инактивиране трябва да се измерва на редовни интервали чрез инокулация в чувствителни клетки и измерване на инфекциозността, докато се достигне концентрация от по-малко от една инфекциозна частица на 10^4 литра вирусна суспензия.
- На всяка партида трябва да се извърши тест за безвредност на добития антиген, чрез пасаж в чувствителни монослойни клетъчни култури за доказване отсъствието на остатъчен жив вирус.

3.3.1.4. Окончателен партиден тест

При липса на проверени GMP, всяка партида от готовата ваксина, трябва да бъде изпитана от производителя по следните критерии:

- **Стерилност** - Във всеки етап от заготовката количеството инактивиран антиген, концентриран антиген и формулиран краен продукт трябва да бъдат изследвани за възможно замърсяване с микроорганизми.
- **Изпитване за идентичност на щам** - За да се демонстрира, че само първоначално избраният(ите) щам(ове) се съдържа/т в крайния продукт.
- **Тестване за наличие на неструктурни протеини на вируса на шара** - Ваксините, за които се твърди, че са пречистени от NSP, трябва да демонстрират, че не индуцират антитела срещу NSP.
- **Безопасност** - Крайният продукт трябва да бъде тестван върху животни, за да се покаже липса на локални и системни реакции за период от 14 дни, освен ако в регистрационното досие не е демонстрирана и одобрена такава.
- **Тест за имуногенност (потентност)** - Стандартът за изпитване на крайния продукт за ефикасност е тестът с провокация с жив вирус. Въпреки това, за тестване на партидно освобождаване, индиректни серологични тестове като ензимно-свързаният имуносорбентен анализ (ELISA)



или вирус-неутрализиращ тест (VNT), могат да се използват за изчисляване на очаквания процент на защита (EPP) или друга система за оценка, при условие, че има корелация между серологичния титър и процента на защита.

3.3.2. Изисквания към процеса на регистрация на ваксините

Ако приемем, че производителят е извършил задоволително всички тестове за гарантиране на качеството по време на производствения процес, трябва да се изготви досие за регистрация на ваксината от регулаторните органи, включително документация за следните характеристики за качеството на ваксините.

3.3.2.1. Производствен процес

Трябва да се представи подробно описание на стъпките, съгласно наръчника на ОЕ за диагностика и ваксини.

3.3.2.2. Изпитване на безопасността на ваксината върху целеви животни

Пробна партида от ваксината трябва да бъде изпитана *in vivo* във всеки целеви вид животни, като се използва препоръчания начин на приложение, като единична и многократна доза. Пробната ваксина трябва да съдържа максимално разрешената полезна доза и трябва да се прилага като първичен курс на ваксинация (обикновено две инжекции с интервал от един месец). Животните трябва да се наблюдават в продължение на 14 дни за локални или системни реакции.

3.3.2.3. Имуногенност

Трябва да се докаже, че всеки ваксинален щам притежава необходимата сила, тъй като някои щамове са по-имуногенни от други. Ефикасността на ваксината се изпитва върху ваксинирани животни чрез провокационни тестове с живи референтни вируси на шапа, от Световната референтна лаборатория или други референтни

лаборатории на FAO/OIE.

Протоколите, използвани за провокационните тестове при говеда са: изпитване за PD₅₀ (50% защитна доза) или PGP тест (защита срещу генерализирана инфекция на краката).

3.3.2.4. Тестване на ваксината по отношение на NSP

Пробна партида ваксина трябва да бъде тествана *in vivo*, за да се докаже липсата на антитела, индуцирани срещу NSP на вируса, ако производителят твърди, че произвежда пречистена ваксина.

3.3.2.5. Продължителност на имунитета (DOI)

Продължителността на имунитета (DOI) зависи от ефикасността на дадената ваксина и той трябва да се демонстрира или чрез провокационен тест или чрез алтернативен тест, описан в раздела за ефикасност, проведен в края на периода на защита, заявен от производителя. Производителят трябва да посочи в регистрационното досие препоръчителната възраст за първата ваксинация и графика за последващите ваксинации.

3.3.2.6. Стабилност

Като част от регистрационното досие, производителят трябва да демонстрира стабилността на характеристиките на ваксината в края на заявения срок на годност (например, че минималната ефикасност се поддържа стабилна). Трябва да се посочи температурата на съхранение и да се даде предупреждение, ако качеството на ваксината може да бъде повлияно от замразяване или температурни флукутации на околната среда при съхранението ѝ.

3.4. Ефективност на ваксината

Ефективността на ваксината (VE) се отнася до защитата, която ваксината постига на терена (в полеви условия) в рамките на програмата за ваксинация. Тя може да се различава от ефикасността на ваксината, установена при идеални контролирани условия.

Ефективността на ваксината може да варира непредвидимо



и трябва да бъде наблюдавана, особено когато се явят огнища по време на ваксинационната програма.

Тази разлика може да се дължи, както на лошото спазване на изискванията за хладилна верига, така и на срока на годност на ваксината. Освен това, различните партии ваксини могат да имат различни имуногенни качества, откъдето да се яви разлика в индивидуалните имунни реакции към ваксинацията.

Ефективността на ваксината обикновено се изчислява чрез сравняване на честотата на заболяване или инфекция при ваксинираните животни с честота при неваксинираните животни, които са били изложени на заразяване с подобно ниво на вирус, като се използва уравнението:

$$VE = (R_U - R_V)/R_U \quad (\text{уравнение 1})$$

където R_U е рискът или степента на заболяемост при неваксинираната популация, а R_V е честотата при ваксинираните. Уравнението може да се преформулира като:

$$VE = 1 - RV/RU \quad (\text{уравнение 2})$$

и обикновено се изразява в проценти.

Данните, необходими за изчисляване на VE, често се събират в полеви проучвания (27).

Възможни са няколко различни схеми. Една проста схема, основана на обследване на огнища, е описана подробно по-долу. Много от методите, описани в различните източници, не са възможни в популации без случаи на заболяване.

3.4.1. Ретроспективно проучване на ефективността на кохортната ваксина

- **Избор на огнище**

- Изберете голяма ферма или село, където е проведена ваксинация през последните шест месеца, но впоследствие се е появило огнище на шап (в същото разследване могат да бъдат включени и няколко съседни села/ферми, засегнати от същото огнище);

- Изследванията се провеждат веднага след приключване на епизоотията (или в крайния стадий на огнището);
- Трябва да са налице достоверни данни (записи) за това, кои животни са били ваксинирани. За малките стопанства това не би трябвало да е проблем;
- Фермерите трябва да знаят, кои животни са развили признаци на шап;
- Не трябва да има заразяване на животните с шап през предходните три години до появата на огнището;
- Допълнителната ваксинация, извършена по време на епизоотията, ще усложни разследването.

• **Вземане на проби и събиране на данни**

- Събира се подробна информация за местните особености на животновъдството, ваксинацията и историята на шап (исторически данни за предишни шапни епизоотии);
- Посещават се домакинствата/фермите, в които са установени случаи на шап или за които е известно, че са били в контакт с такива случаи. Ако няма достатъчно време за включване на всички отговарящи на условията домакинства/ферми, трябва да бъде избрана произволна извадка на принципа на случайния подбор. При отсъствие на такава възможност, може да се прибегне към процедура на систематичен подбор, при който да се вземат пропорционални дялове от различни географски участъци на село или голяма ферма.
- В рамките на домакинствата/фермите след това се събират подробности за това дали дадено животно е било засегнато от шап и подробности за ваксинацията за всяко животно. От животните се вземат кръвни проби (това може да включва само говеда на възраст 24 месеца). Всички говеда преминават през клиничен преглед за наличие на шапни лезии (афти) по твърдото небце, венците, устните и езика (екструдирани), освен когато това е невъзможно или опасно.
- Оралните везикули и мехури обикновено се появяват около четири дни след инфекцията. Те обикновено заздравяват в



рамките на десет дни, оставяйки белег, който става по-малко видим с течение на времето, въпреки че огнища без езикови папили могат да бъдат видими в продължение на седмици след това (1). Тъй като появата на клинични признаци е силно свързана с отделянето и предаването на вируса, това е важен елемент за оценката на степента на защита на ваксината.

- Говеда на възраст под шест месеца могат да бъдат изключени, тъй като може да имат защита от майчините антитела.
- Обследването може да отнеме около осем дни на трима обучени ветеринарни специалисти, в условията на неефективно функционираща инфраструктура, с разчет, изискващ включването в извадката на най-малко 250 говеда (за предпочитане много повече), от които да бъдат взети проби, въпреки че трябва да се направи точно изчисление на размера на извадката.

• Анализ

Най-простият вариант на анализа се заключава в това, да се проучи заболяемостта (т.е. броя на случаите спрямо общия брой животни), според броя на дозите ваксина, които животните са получили през живота си. Животно се счита за болно от шап, ако е докладвано от фермера или е открито при прегледа. Ако е използвана пречистена ваксина, наличието на инфекция се установява чрез серологични изследвания за наличие на антитела срещу NSP на вируса.

Ефективността на последната доза от ваксината може да бъде оценена с помощта на уравнение 1 или 2, като за предпочитане е да се направи отделна оценка за говеда, получили различен брой дози ваксина през живота си. Когато ваксинацията се извършва регулярно, то количеството на дозите ще корелира силно с възрастта на животните и може да е невъзможно да се отдели защитният ефект, свързан с възрастта от този на ефекта от ваксината. Когато във фермата има неваксинирани говеда от всички възрастови групи, този ефект може да бъде контролиран чрез използване на многопроменлива регресионна техника или метода на *Mantel-Haenszel*. Ако това не бъде направено, необработените и некоригирани данни за ефективността на ваксината вероятно ще

бъдат предубедени и подвеждащи. Необходима е да бъдат проучени и други обръквачи фактори. Въпреки това, могат да се направят заключения относно защитата, индуцирана от ваксината, ако се проучи честотата на случаите на заболявания при ваксинираните животни и преценка дали тя е неприемливо висока или не, особено при тези на многократно ваксинираните животни.

Силни страни: Този метод е сравнително евтин, може да се приложи бързо и има вероятност да постигне добър резултат.

Слаби страни: Методът разчита на спомените и записите на земеделските производители и затова се препоръчва кръстосана проверка на различните източници. Изследваните огнища могат да бъдат изолирани случаи на неуспех на ваксинацията и да не отразяват ефективността на ваксината. Неваксинирани контролни животни може да не присъстват винаги в стопанството.

3.5. Съображения при закупуване на ваксината

Когато ваксинацията срещу шап е част от правителствено регулирана програма за контрол на заболяването, ваксината трябва да бъде лицензирана и използването ѝ да бъде оторизирано в страната от съответните компетентни органи. Ваксината трябва да бъде получена от един или повече реномирани производители, които произвеждат противошапна ваксина в съответствие с Наръчника на ОЕ за сухоzemни животни или в съответствие с национален стандарт, който се счита за еквивалентен на тези стандарти. Преди да се закупи противошапна ваксина, трябва да бъде поискано от производителя досие с информация за продукта, което ще помогне при избора на най-подходящия доставчик и ваксина за програмата за ваксинация. Когато информацията, предоставена от производителя или опита от употребата на ваксини в областта оставят съмнение относно абсолютната или относителната пригодност на дадена ваксина, тогава тя може да бъде изпитана независимо от твърденията на производителя на ваксината. Това може да стане чрез ваксиниране на група от целевите животински видове и изследване на индуцирания защитен имунитет с помощта на индиректни серологични методи и, ако е необходимо, чрез директно заразяване с жив вирус. В случай

на повторна поръчка на ваксина, проби за серология могат да бъдат взети от животни в полето, които вече са били ваксинирани с предишната партида от въпросната ваксина.

3.5.1. Закупуване на ваксини чрез тръжна процедура

Много ситуации изискват закупуване на ваксина чрез тръжна процедура, особено когато трябва да бъдат закупени големи количества от националния бюджет или чрез донорска агенция. Поканата за търг трябва да включва следната информация, за да позволи на производителя да предостави задоволително тръжно досие:

- **Информация, предоставена от оферента:**

- вирусният щам(ове), който(и) трябва да бъдат включени във ваксината;

- целевият вид животни за ваксинация;

- броят на заявените дози;

- обема на една доза на ваксината и броя на дозите във флакон;

- естеството на предпочитания адювант и състава на ваксината;

- специални изисквания по отношение на етикета (например размер, език, предупреждения).

- **Информация, предоставена от производителя:**

Общи изисквания:

- Процесът на производство на ваксината и тестването за контрол на качеството на крайната партида и готовия продукт трябва да се провеждат съгласно съответните глави от Наръчника за сухоземни животни на ОIE.

- Ваксината трябва да се произвежда в лицензирани от националните регулаторни органи съоръжения, които отговарят на съответните изисквания.

Специфични изисквания:

- Тип ваксина – Трябва да се посочат серотиповете и щамовете,

съдържащи се във ваксината.

- Видове животни – Ваксината срещу шап трябва да бъде одобрена за употреба при целевите видове животни.
- Количество – Трябва да се посочи броя дози и дозите във флакон.
- Начин на приложение – Трябва да се посочи начина на приложение.
- Адювант – Да се посочи вида на адюванта (единична маслена емулсия, двойна маслена емулсия или алуминиев хидроксид и сапонин).
- Ефективност – Да се посочи желаната ефикасност на ваксината в PD_{50} (обикновено $3PD_{50}$ или $6 PD_{50}$ за спешна имунизация). Да се посочи началото (обикновено две седмици) и продължителността на имунитета (обикновено шест месеца).
- Стабилност – Трябва да се посочи срокът на годност на ваксината (готов продукт или партида, изготвена *ex tempore* от концентриран антиген) (обикновено период от най-малко 12 месеца).
- Референтни серуми – Да се посочи, дали могат да бъдат предоставени отферента серуми, добити срещу хомоложните ваксинални щамове, които да се използват като референтни стандарти при серологичните тестове.
- Препоръчителна схема за ваксинация – Обикновено изисква първичен курс с две дози, за да се постигне шестмесечна защита.
- Тръжното досие трябва да бъде представено на желания език и трябва да предостави документация/доказателство за всички изброени по-горе точки, както и датата и мястото на доставка, препоръките за съхранение и датата на изтичане на срока на годност.



3.5.2. Доставка на ваксини от оферента

Ваксината трябва да бъде доставена на определено място в страната. Контейнерите за ваксини трябва да бъдат снабдени с устройства за наблюдение на студената верига. Преди да приеме пратката, получателят трябва да се увери в непрекъснатото съхранение на ваксината при хладилни условия 2–8°C по време на транспортиране, за да поддържа качеството на ваксината.

Всяка партида противошапна ваксина трябва да бъде придружена от документация, специфична за партидата, подписана от оторизиран, подходящо квалифициран експерт, представляващ производителя, съдържаща цялата информация за продукта, описана в раздела по-горе и в допълнение:

- идентификация на партидата;
- дата на производство;
- всякакви специфични инструкции, например разклатете добре преди прилагане;
- предупреждение за опасност в случай на инцидент (самоинжектиране).

3.6. Контролен списък за избор на ваксина

- Ефикасността на ваксината варира значително, така че цената не е единственият важен фактор в тържния процес.
- Може да има важни антигенни разлики между ваксиналните и полевите щамове, така че получите независим съвет относно избора на щам от референтните лаборатории.
- Изпратете проби от скорошни огнища до референтната лаборатория за характеризиране на вируса и съпоставяне на ваксините.
- Купувайте от един или повече реномирани източници и се уверете, че има независима система за контрол на качеството.
- Тествайте имунните реакции, предизвикани преди и след покупката.

4. ВАКСИНАЦИЯ

Ваксинацията срещу инфекциозно заболяване, като шапа, може има различни цели:

- намаляване броя на животните, които ще развият клинични признаци след заразяване и по този начин ограничаване на икономическите последици от болестта (напр. смъртност на младите животни, загуба на млечност, намален растеж и мощност на теглене); и/или
- прогресивно намаляване или блокиране на циркулацията на шапен вирус, като в този случай делът на ваксинираните животни трябва да бъде достатъчно висок, за да намали веригата на предаване на вируса в целевата популация.

Следователно ваксинацията може да бъде насочена към конкретен сектор в животновъдството, като например млечни говеда или свине, които страдат значително от болестта, или към технологии, които насърчават устойчивостта и разпространението на вируса, например такива, които поддържат възприемчивите видове при висока плътност или редовно търгуват с животните си. Ваксинацията трябва да се прилага като част от по-широки мерки за контрол, включително откриване и контрол на огнища, контрол върху движението на животни и техните продукти и наблюдение. Контролът на шапа е дългосрочен процес, който се прилага успешно в продължение на много години в различни страни и континенти. Ръководството за поставяне и прилагане на различни подходи е изложено като прогресивен път за контрол на шапа (15, 38).

Системата за доставяне може да бъде дефинирана като последователност от събития, която води от разпространението на ваксината до мястото, където в крайна сметка ще бъде изпратена на ваксинаторите, до прилагането на ваксината на животните. Системата за разпределение и доставка трябва да гарантира, че върху голяма част от животинската популация, отговаряща на условията за ваксинация, действително се прилага ефикасна ваксина.

Графикът на ваксинацията е времето за ваксинация и



реваксинация по отношение на възрастта и вида на животните, тяхната история на ваксинация, профила на риска от инфекция, сезона и други фактори, всички от които варират в зависимост от преобладаващите обстоятелства на отглеждане и моделът на поява на шап, както и целите на програмата за контрол (16).

Делът на отговарящите на условията животни, които действително са ваксинирани, се нарича обхват на ваксината и това може да се наблюдава и използва като индикатор за ефективността на системата за разпространение и доставка. Покритието с ваксини, необходимо за контрол на шапа, зависи от скоростта на разпространение на вируса, което от своя страна зависи от начина на отглеждане и преместване на животните и други рискови фактори, свързани с непрякото разпространение на вируса. Информацията за покритието с ваксини се използва за различни цели: за наблюдение на изпълнението на имунизационните услуги на местно, национално и международно ниво; за насочване на инициативи за контрол на заболяванията и за идентифициране на области със слаба работа на системата за доставка, които може да изискват допълнителни ресурси и фокусирано внимание (7). Доброто покритие на ваксините показва, че системата за разпространение работи правилно. За да се измери обхвата на ваксината, трябва да се съберат подходящи данни и в идеалния случай трябва да се въведе система за проследяване, така че партидите ваксини да се проследяват от централните до местните центрове и накрая до ваксинаторите.

Таблица 2: Отговор на ключови въпроси преди вземане на решение за ваксинация

Дали да ваксинираме?	ДА! Ако болестта не може да бъде поставена под контрол само и единствено с помощта на “stamping out” метода.
Кога да ваксинираме? В кой момент трябва да се вземе решението за ваксинацията?	За да бъде ваксинацията максимално ефективна, тя трябва да бъде извършена колкото е възможно по-бързо, а решението за нея - взето рано, особено при кръговата ваксинация. Но колко рано, е трудно да се каже в хода на прилагането на stamping out.
Кои видове и категории животни да ваксинираме?	Дали да се ваксинират всички възприемчиви видове или само някои от тях? Дали ваксинацията ще е еднакво ефективна при всеки вид? Дали е практически възможно да се обхване цялата прицелна популация? Кои категории животни да се ваксинират? Дали само ценните животни и родителските стада? Ще се ваксинират ли животните от задните дворове и има ли ресурси за това? Как ще се следи имунитета и движението при тях?
Каква ваксина да използваме?	Предвид това, че има различни типове ваксини, приготвени с различни шамове и адюванти и с различна концентрация 3 и 6 PD ₅₀ , е важно да се избере ваксина, която да създава бърз и напрегнат имунитет и да позволява диференцирането на постинфекциозните от поствакциналните антители чрез т.нар. DIVA тестове. Дали обаче такива ваксини са налице и на достъпна цена?
Какъв тип спешна ваксинация да използваме?	Изборът трябва да се основава на следваната стратегия: ваксинация за живот или ваксинация за убиване, бариерна, кръгова, потискаща, прицелна и т.н.



<p>Каква ще е изходящата стратегия?</p>	<p>Как ще се процедира с ваксинираните животни и с продуктите от тях? Как ще се постигне отново статут на зоната или страната „свободна от шап“? Какви програми за надзор и мониторинг ще се прилагат?</p>
--	--

4.1. Цели на ваксинацията

В съответствие с целите на ваксинацията, могат да бъдат идентифицирани следните четири категории:

- Ваксиниране за намаляване на честотата на клиничното проявление на шапа – В тази категория са страни или зони, където шапът е ендемичен и основната цел на програмата за ваксинация е да намали тежестта на клиничните случаи на шап. Този сценарий е типичен за страни или зони, които са на етап 2 от програмата си за борба с шапа.
- Ваксинация за елиминиране разпространението на шапа – В тази категория страната или зоната все още не е постигнала статут на свободна от заболяването, но се движи към този статус. Официалната програма за контрол на шап може да стане допустима за одобрение на ОИЕ съгласно съответната глава от Кодекса за здравето на сухоземните животни на ОИЕ. Ваксинацията вероятно ще бъде един от компонентите на цялостната програма за контрол, която включва допълнителни мерки, като контрол на движението и унищожаване на болните и контактните животни, познато като “stamping out”. Този сценарий може да е типичен за страни на етап 3 от своята програма за контрол на шапа.
- Ваксиниране за поддържане на статута на зоната или страната като свободна от шап – Това са страни или зони, които са признати за свободни от шап с ваксинация, съгласно Кодекса за здравето на сухоземните животни на ОИЕ и в които страни и зони циркулацията на шапен вирус сред домашните животни

е елиминирана. Прилагат се програми за ваксиниране, за да се сведат до минимум последствията, ако навлизането на шап се случи отвън. Този сценарий е типичен за страни на етапи 4 и 5 от своята програма за контрол на шапа.

- Ваксиниране за възвръщане на статута на зоната или страната, „свободни от шап“ – Това са страни или зони, преди това, свободни от шап и където ваксинация може да е приложена или не, но в които е проникнал шап и се опитват да възстановят статуса си на свободни от болестта, в съответствие с Кодекса за здравето на сухоземните животни на ОИЕ. В тази категория попадат държави или зони, които са преживели скорошно повторно въвеждане и работят за възстановяване на свободния си статут. Програмите за ваксиниране се прилагат като спешна мярка, за да се възстанови статуса без шап, като страните от категория В. При условие че огнища се контролират бързо, може да не се изисква дълъг период на защита. Този сценарий може да се намери в страни на етап 5 от своята програма за контрол на шапа или в тези, които са се отклонили от пътя, след като са били официално признати за свободни от шап без ваксинация.

Очевидно целта, степента и продължителността на програмата за ваксинация ще диктуват целевата популация за провеждане на програма за контрол на шапа.

4.2. Видове ваксинации и тяхното приложение

Ваксинациите срещу заразните болести по животните и в частност шапа от години са обект на дискусии в ЕС. Всички страни членки са единни в становището си, че те са полезно помощно средство в борбата с някои болести, но се различават в мненията си за това при кои болести, в кои случаи, какъв вид ваксинация и колко пъти да се прилага, как да се упражнява контрол върху ваксинираните животни и продуктите, добити от тях. Тези различия са продиктувани главно от:

- Различния здравен статус на страните членки;
- Проблемите на отделните страни членки в ресурсното



обезпечаване на профилактиката и борбата за изкореняването на различните болести;

- Стремещът за достъп до международните пазари за животни и животински продукти.

Законодателството, прието в началото на 1990 г. забрани профилактичните масови ваксинации срещу шап и КЧС в ЕС, но остави възможността за използване на спешна ваксинация при необходимост. Препоръките за използването ѝ обаче са формулирани доста широко и това създава предпоставки те да бъдат интерпретирани по различен начин от отделните страни членки, а именно, когато преценят, че не е възможно или желателно умъртвяването на голям брой животни в дадената ситуация. Такава ситуация може да е например, когато гъстотата на популацията е висока, а болестта взема размери, които надхвърлят ресурсните възможности на ветеринарната служба за справяне само чрез “stamping out” или пък когато не могат да бъдат покрити разходите за изплащане на обезщетения при потушаването на широкомащабни огнища, както и когато възникнат проблеми от етична гледна точка, свързани с унищожаването на животните. Затова е желателно решението за използване на спешна ваксинация да се основава на предварителна оценка за състоянието на инфраструктурата и капацитета на ветеринарната служба и нейното финансово състояние.

Ваксинацията потиска репликацията на патогенния агент в гостоприемниковия организъм и го предпазва от заболяване, но не и от инфекция. Инфекциозният титър на патогенния агент при ваксинираните животни е много по-нисък, а носителството и излъчителството - по кратки. Това води до намаляване броя на животните носители и излъчители, от тук и на количеството на циркулиращия в околната среда патогенен агент. Освен това ваксинацията повлиява динамиката на епизоотичния процес чрез намаляване броя на новите случаи на заболяване „аварийните ситуации”, с което се печели време за организиране мерките за тяхното ограничаване и ликвидиране.

В този раздел се обсъждат възможностите за използване на ваксинацията като помощно средство за предотвратяване,

ограничаване или ликвидиране на шапа.

4.2.1. Масови профилактични ваксинации

Исторически масовите профилактични ваксинации са изиграли огромна роля в борбата с редица инфекциозни болести по хората и животните в т.ч. и шапа.

Масовите профилактични ваксинации са подходящи за страни или райони, ендемични по отношение на дадена болест или такива с голяма популация екстензивно отглеждани животни, при които болестта се разпространява бавно. Ако са изпълнени както трябва, те могат значително да намалят заболяемостта, смъртността и производствените загуби, чрез редуциране броя на възприемчивите животни в популацията и количеството на излъчения в околната среда на инфекциозен агент, както и да допринесат за създаване на зони, свободни от болестта.

Масовите профилактични ваксинации не трябва да се използват самостоятелно, а само като помощно средство и като част от обща стратегия за борба с дадена болест и то след внимателен и задълбочен анализ на рисковите популации и райони и на последствията от тях. За успеха от прилагането им трябва да се съди след съпоставяне на резултатите спрямо целта, а не изобщо. А целта на масовите профилактични ваксинации не е единствено да предпази от заболяване ваксинираните животни, но и неваксинираните, чрез намаляване на “инфекциозния натиск” в популацията от присъствието на група от ваксинирани (невъзприемчиви) животни. Този феномен е известен като стаден имунитет. За целта обаче трябва да се постигне определена критична прагова стойност, при която достатъчен брой животни от популацията трябва да са имунни, за да спре по-нататъшното разпространение на болестта, дори сред неимунната част от популацията.



4.2.2. Математика на масовата ваксинация

Базовият репродуктивен брой R_0 (*basic reproduction number*), е средния брой вторично инфектирани индивиди от всеки първично инфектиран индивид в популацията, при отсъствие на имунитет и мерки за ограничаване и ликвидиране на инфекцията. Той е показател за това, дали една инфекция ще продължи да се разпространява в дадена популация или не.

Пример: Ако болестта е въведена в групата от индексния случай, който заразява един индивид, който от своя страна заразява двама други и т.н. Средният брой индивиди, директно заразени от всеки случай, е: $(1+2+0+3+2+2+3+1+0+1)/10 = 1.5$

Когато са възможни мерки за контрол, епидемиолозите се интересуват повече от *ефективния репродуктивен брой (R)*, който представлява действителния среден брой вторично инфектирани случаи от всеки първичен случай, наблюдаван в популацията. Стойността му обикновено е по-малка от стойността на основния репродуктивен брой и отразява въздействието на мерките за контрол и изчерпването на възприемчивите към инфекцията индивиди от популацията.

Контролният репродуктивен брой (R_c) е средния брой вторично инфектирани случаи, дължащи се на всеки първично инфектиран случай, при наличието на контролни мерки като ваксинация. В случай на ваксинация, контролният възпроизвеждащ номер се получава от следното уравнение: $R_c = R_0 (1-h.f)$, където

h е ефикасността на ваксината (процентът на ваксинираните индивиди, които ще имат пълна защита), и

f е обхвата с ваксина (пропорцията от популацията, която е ваксинирана).

Така че, ако целта на програмата за ваксинация е да се постигне $R_c < 1$, като се осигури надпрагово ниво на стаден имунитет, необходимото покритие на ваксината се получава от следното уравнение: $F > (1-1/R_0)/h$

Тази част от населението, която трябва да бъде ваксинирана, за да се спре по-нататъшното разпространение на болестта, е $1 - 1/R_0$.

Инфекциозната болест се превръща в ендемична, когато се поддържа непрекъснато в дадена популация без необходимост от

повторното ѝ внасяне отвън. Това означава, че средно всеки един инфектиран индивид инфектира по един възприемчив, защото, ако броят им е по-голям, ще има експоненциално нарастване на броя на инфектираните, докато се стигне до епидемия и обратно, ако броят на инфектираните е по-малък, инфекцията ще заглъхне и в крайна сметка ще се преустанови. Математически изразено, едно стабилно ендемично състояние изглежда така:

$$R_0 \times S = 1.$$

Където S е пропорцията на възприемчивите към болестта индивиди спрямо популацията.

Когато $R_0 < 1$, инфекцията постепенно ще угасне при положение, че появата на нови случаи се запазва в постоянни граници, но ако $R_0 > 1$, тя ще продължи да се разпространява в популацията. Колкото по-голямо е R_0 , толкова по-голяма е вероятността от възникването на епидемия (респективно от епизоотия) и толкова по-трудно за овладяване е положението. Опази част от популацията, която трябва да бъде ваксинирана, за да се спре по-нататъшното разпространение на инфекцията, се означава с $1 - 1/R_0$.

Основният репродуктивен брой се повлиява от различни фактори като:

- вероятност за предаване на инфекцията при контакт между инфектирани и възприемчиви индивиди (т.нар. ефективни контакти) и броят на ефективните контакти;
- продължителността от време, през което инфектираните индивиди са способни да инфектират други възприемчиви индивиди от популацията;
- степента на възприемчивост към инфекцията на различните възрастови групи, инфекциозността на патогенния агент;
- броя на възприемчивите индивиди от популацията, с която инфектираните индивиди са били в контакт, стадния имунитет и др.

R_0 се изчислява по формулата: $R_0 = C * P * D$, където:

C е броя на контактите, които заразено животно/лице прави за единица време (ден, седмица, месец и т.н.)

P е вероятността за предаване при контакт със заразено



животно/лице

D е продължителността, през която заразено лице е заразно за другите, измерена в същата времева единица, като в **C**.

Ваксинацията има за цел да намали броя на податливите индивиди, които могат да бъдат заразени, когато влязат в контакт през този период със заразени такива. Ако съотношението на имунните спрямо неимунните животни в дадена популация надвишава определен процент (известен като прагов стаден имунитет за тази болест, например над 85% от животните са имунни), болестта не може повече да се поддържа в тази популация. Ако такова ниво на стаден имунитет може да се постигне чрез ваксинация, болестта може да бъде изкоренена. Пример в това отношение е изкореняването в световен мащаб на едрата шарка по хората и чумата по говедата.

Стадният имунитет се различава от индивидуалния, тъй като зависи от съотношението на заразените животни, животните в инкубационен период, болните животни, рековалесцентите животни, ваксинираните животни, преболедевалите животни, възприемчивите животни, както и наличността на животни вирусноносители в стадото.

Тъй като тези пропорции са динамични, стадният имунитет може да варира значително във времето за разлика от индивидуалния имунитет, който остава относително стабилен за продължителни периоди от време, особено когато се придобива активно.

Нивото на стадният имунитет зависи в голяма степен от хоризонталната и вертикалната динамика в популацията (смъртност, раждаемост, отстраняване и добавяне на нови животни в стадото и т.н.), както и от контактите между животните и между стадата.

Ако означим нивото на стадният имунитет като q , S ще е $(1 - q)$, където q е делът на имунната популация, а $(q + S) = 1$ (тъй като условно всяко животно е или възприемчиво или имунно). Откъдето:

$$R_0 \times (1 - q) = 1, \quad 1 - q = \frac{1}{R_0}, \quad q = 1 - \frac{1}{R_0}.$$

Това е праговото ниво. Ако програмата за ваксинация

постигне увеличаване броя на имунните животни от популацията над критичното прагово ниво и успее да задържи нивото на стадния имунитет над този праг, предаването на инфекцията пропорционално ще спада и болестта ще угасне. Този феномен е известен като елиминиране на инфекцията и представлява прекъсване на ендемичния ѝ ход. Редуцирането на инфектираните индивиди и свеждането им до нула е известно като изкореняване на инфекцията. Затова е необходимо да се изчисли **критичният имунизационен праг** означен като (q_c), който представлява минималния дял на животните от дадена популация, които трябва да бъдат имунизирани при раждането им или скоро след това, за да се елиминира инфекцията от тази популация.

$$q_c = 1 - \frac{1}{R_0}$$

Ако използваната ваксина е недостатъчно ефективна или пък не може да се постигне задоволителен обхват (процент) на ваксинирани животни, програмата няма да може да осигури надпрагови нива на стаден имунитет (q_c) и това може да доведе до негативни последици, а именно забавяне хода на инфекцията без тя да бъде елиминирана.

4.2.3. Спешна ваксинация (*Emergency vaccination*)

Член 69 на Регламент (ЕС) 2016/429 на Европейския парламент и на Съвета регламентира условията и реда за провеждане на спешната ваксинация в отговор на възникнали огнища на шап. Компетентният орган обаче, трябва да изготви план за ваксинацията и да посочи зоните, в които тя ще се проведе.

Спешната ваксинация е една от мерките, които могат да се приложат за ограничаване и ликвидиране на възникнала заразна болест в допълнение на зоосанитарните мерки, които включват: бърза диагностика, проследяемост и контрол върху придвижванията, дезинфекция и унищожаване на болните и контактните животни и.т.н.

Терминът спешна (извънредна, принудителна, спомагателна или още аварийна) ваксинация може да има различни тълкувания,



но основно се използва за разграничаване от рутинната, масова профилактична ваксинация, тъй като се използва при извънредни обстоятелства като незабавен отговор на възникнало огнище на остро заразно заболяване.

Спешната ваксинация може да се прилага по различен начин при различни обстоятелства като например:

- 1. Превантивната ваксинация (*preventive vaccination*) известна още като изпреварваща ваксинация (*pre-emptive vaccination*),** се прилага при животни, изложени в най висока степен на риск или пък в животновъдни стопанства и ферми, които не попадат в заразената зона, но които са застрашени от проникване на инфекцията в близко време. Тя може да се дефинира още като **“ваксинация за живот”**, тъй като се използва при болести, за чието ликвидиране се прилага **“stamping-out”** т.е. унищожаване на болните и контактните животни. Тази ваксинация има за цел да се създаде зона за ваксинация извън защитната зона, за предпазване на животните от въздушно-капкова инфекция. Необходимо е обаче да се вземат предвид голям брой фактори, включително качеството и ефикасността на ваксината и приетите международни стандарти за борба с болестта. Тази стратегия се прилага рядко, когато рискът от инфекция е нисък и най-вече когато се касае за застрашени от изчезване или редки животински видове.
- 2. Кръгова или буферна ваксинация (*ring vaccination*)** се прилага извън или около огнището на заразна болест, появила се в страна или район, преди това свободни от тази болест и в които не е провеждана профилактична ваксинация срещу нея. Целта е да се ограничи по-нататъшното разпространение на болестта чрез създаване на бариера от ваксинирани невъзприемчиви животни извън или около инфектираната зона, която да възпрепятства разширяването на ареала на инфекцията и която да забави нейния ход. Местоположението и формата на буферната зона се избират в зависимост естествените географски характеристики

на района (като напр. долина, равнина, котловина и пр.) или пък в зависимост от демографските особености на популацията, изложена на риск. Други термини, използвани за охарактеризиране на този тип ваксинация, са **буферна (buffer)** или тип „огнезащитна ивица“ („**firebreak**“). Диаметърът на кръговата ваксинация около огнището на заразната болест зависи от голям брой фактори, такива като епизоотологичните особености на инфекциозния агент, гъстотата на животинската популация, изложена на риск, наличните ресурси и пр. Този тип ваксинация много често се отъждествява с превантивната ваксинация, но това не е точно така. Когато се прилага кръгова ваксинация, както животновъдните стопанства, намиращи се вътре, така и тези извън инфектираната зона могат да бъдат включени във ваксинацията, за да се редуцира вирусоемчивостта и да се създаде защитен пояс, около инфектираната зона, който да предотврати по-нататъшното разпространение на болестта, особено при силно контагиозни болести като КЧС и шап.

3. **Барьерна ваксинация (*barrier vaccination*)** се прилага обикновено в застрашените граничните райони, при поява на огнища на остра заразна болест в съседна държава или регион.
4. **Потискащата, тампонна известна още като заглушаваща ваксинация (*suppressive*) или (*dampening down vaccination*)** се прилага понякога, като допълнителна мярка към „*stamping-out*“ политиката и обхваща популациите от възприемчиви животни, намиращи се най-често в предпазната зона около мястото на огнището. Това е своего рода форма на кръгова ваксинация, последвана от унищожаване на ваксинираните животни. Прилага се при животни изправени пред непосредствен риск или такива, които са изложени на инфекция. Правителството на Великобритания в плана си за спешни мерки при извънредни обстоятелства от 2004 г, след голямата епизоотия от шап, дефинира тампонната ваксинация като „**ваксинация за убиване**“ („*vaccination to*



kill“). Целта е да се намали количеството циркулиращ вирус в заразената зона и да се спечели известно време за създаване на организация и провеждане на мерките за ограничаване и ликвидиране на болестта. Тампонната ваксинация се използва най-често в гъсто населени животновъдни райони с масивни огнища, за ликвидирането на които е необходимо да се създаде необходима организация за унищожаване на животните, обезвреждане на трупове, саниране на помещенията и околната среда и осигуряване на средства за изплащане на обезщетения на стопаните на унищожените животни.

5. **Прицелна ваксинация (*targeted vaccination*)**. При определени обстоятелства може да се наложи целево да се ваксинират генетично ценни, зоопаркови или циркови животни, животни от застрашени видове, за да се предпазят от заболяване, както и такива които имат способността да генерират големи количества инфекциозен патоген в случай че бъдат инфектирани. Пример за такъв тип ваксинация са свине от големи свинекомплекси при шап, тъй като излъчват огромни количества вирус под формата на аерозол с издишания въздух (около 3000 пъти повече от говедата). Така че тази ваксинация е превантивна, насочена е към високо рисковите животни и стопанства в околностите на огнището и има за цел да намали риска от ескалация на инфекцията, чрез имунизирани на високорисковите единици, които впоследствие могат да създадат сериозни проблеми и да ангажират значителни ресурси, както и да спаси отделни животни от болестта.
6. **Покриваща, задушаваша ваксинация (*blanket vaccination*)** обхваща всички възприемчиви животни от отделни географски райони, от цял регион или дори държава. Обичайният подход е да се ваксинират само домашните животни в района около инфектираната зона. В много от случаите формата на ваксиналната зона се определя от фиксираните граници или определени географски ориентири. Понякога терминът

масова ваксинация (*mass vaccination*) се използва в смисъл на широкомащабна покриваща ваксинация (*large-scale blanket vaccination*). Използването и е индикатор, че стратегията „stamping out” не е успяла и че е необходимо по-дълго време за подготовка и организиране на протиепизоотичните мерки. Масовата ваксинация може се използва и като първоначален отговор при избухване на болестта в зависимост от целите, които се преследват и международните стандарти, с които страната трябва да се съобрази. Аспектите, които са важни и трябва да бъдат взети под внимание, когато се избира стратегията с използване на тази ваксинация са географското местоположение на огнището, гъстотата на животновъдните стопанства в района и на други фактори, които могат да повлияят разпространението на инфекциозния агент, като климатични условия и пр. Гостоприемниковите фактори, свързани със забавяне на имунния отговор също трябва да се вземат под внимание.

7. **Подсилваща ваксинация (*buster vaccination*)** се използва като допълнителна спешна ваксинация при поява на огнище на заразна болест в регион или зона, където преди това е провеждана ваксинация, с цел повишаване на имунитета. Подсилваща ваксинация се използва още и при поява на огнище на заразна болест в страна или регион, в които рутинно се прилага превантивна ваксинация срещу тази болест, но когато използваната ваксина не създава стабилен имунитет срещу циркулиращия на терена щам.
8. ***Post exposure vaccination*** е специфична спешна ваксинация, която се прилага след като възприемчивия индивид вече е бил изложен на рисковия фактор, какъвто е случаят с ухапаните хора от животни, за които има съмнение, че са болни от бяс.



4.2.4. Критерии за успех на спешната ваксинация

Критериите, които определят като успешна извънредната ваксинация, включват бърз достъп до ваксини, които:

- съдържат щам или щамове, които са в достатъчна степен антигенно родствени (хомоложни) с теренния(ите) щам(ове), предизвикал(и) заболяването;
- са съобразени с нуждите на създалата се ситуация. Например противошапните ваксини, приготвени с адювант алуминиев хидроксид, са подходящи за преживни, но не и за свине, докато олеозните противошапни ваксини са универсални и са подходящи както за преживни, така и за свине, но изграждат имунитет малко по-бавно, поради по-бавната резорбция;
- притежават приемливо ниво на безопасност и ефективност. Например международните изисквания за титъра на противошапните ваксини, използвани за масова превантивна ваксинация е минимум $3PD_{50}$ (50% протекционни дози в една ваксинална доза), докато в тези за спешна ваксинация е $6PD_{50}$;
- са налични в достатъчно количество и могат да се доставят незабавно;
- са достъпни и са на приемлива цена.

Необходимо е да има достъп до банка за ваксини за спешни ситуации или да се поддържа стратегически резерв от такива, както и за някои дезинфектанти, диагностикуми, консумативи, защитни облекла и др. материали от първа необходимост, които да залегнат в плана за действие при извънредни ситуации и да гарантират възможността за незабавното им доставяне до нуждаещото се място.

Идеалният вариант за ваксините за спешна ваксинация е, ако те са с по-висок титър от конвенционалните, използвани за масовите профилактични ваксинации и ако позволяват разграничаване на инфектираните от ваксинираните животни (т.нар. DIVA - *Differentiation of infected from vaccinated animals*). Високотитърните конвенционални ваксини могат да се използват също и като

ваксини за извънредна ваксинация, особено от хомоложен щам и са приготвени с подходящи материали (адюванти и пр.), както и ако са в наличност за незабавна употреба.

4.2.5. Дилемата за и против спешната ваксинация срещу шап

Спешната ваксинация е една от мерките, която може да се използва като елемент от комплекса от мерки за ограничаване и ликвидиране на заразните болести по животните, като “*stamping-out*”, ограничение на движението, мерки за биосигурност, ДДД и др. зоосанитарни мерки и надзор.

Терминът “*спешна ваксинация*” се използва за обозначаване на разликата от рутинните масови профилактични (превантивни) ваксинации. Спешните ваксинации се прилагат като незабавен отговор на появили се огнища на заболяване.

Решението дали и кога да се прибегне към ваксинация при появата на шап е винаги дискуссионно, поради което предимствата, недостатъците и ограниченията, свързани с приложението на ваксината, следва внимателно да се преценят в контекста на конкретната ситуация, възможните изходи от нея, както и от гледна точка на социално икономическите последици, защото използването на ваксинация срещу шап не е без последици от рода на ограничения върху придвижването и търговията с животни и животински продукти, произхождащи от ваксинирани животни или тяхните кохорти и те са свързани главно с:

- проблеми с носителството на патогенния агент у ваксинираните животни;
- проблеми за разграничаване на ваксинираните от инфектираните животни;
- ефикасността и бързината при прилагане на спешните ваксинации;
- необходимостта от провеждането на редица изследвания за придобиване на статут на популацията “свободна от болестта”.

Продължителността на ограничителните мерки обаче може значително да се съкрати, ако ваксинацията е съчетана с ефективна система за постваксинален мониторинг и контрол. Оporочаване



на ефекта от ваксинацията се наблюдава обикновено, когато програмата за ваксинация създава повече проблеми отколкото решава, а това често се случва, когато броят на ваксинираните животни е малък или ваксинацията трае дълго и това позволява на инфекцията да се разпространява по-бавно отколкото в неимунните популации. В случай, че се вземе решение за използване на спешна ваксинация, задължително трябва да се изготви и изходяща стратегия, която да укаже продължителността и условията за прилагането и прекратяването ѝ, както и на мерките за надзор по време на ваксинацията и след това.

Предимствата на спешната ваксинация се състоят в забавяне или дори спиране разпространението на болестта, без да се налага да се убиват голям брой животни. Това може да бъде от особена важност, когато популации от редки породи са географски съсредоточени сред съмнителни за заразяване животни (ФАО 2007).

Основният аргумент, представен срещу ваксинацията, е въздействието ѝ върху външната търговия, тъй като вносителите обикновено реагират със забрана за търговия със засегнати страни, в които е приложена ваксинация. Други недостатъци на ваксинирането са разходите за самата ваксинация. Освен това, ограниченията върху обработката на месото от ваксинираните животни, могат значително да намалят икономическата им стойност. Неикономическите причини включват факта, че ваксинираните животни трудно се различават от заразените чрез лабораторни тестове в случай на епизоотия.

Не на последно място, ваксинацията не винаги е ефективна. Дори в страни, които се опитват да ваксинират голяма част от животинската си популация срещу шап, се появяват огнища на болестта. Това може да се дължи на използването на ваксини с недостатъчно добро качество (например, които не съдържат достатъчно антиген или съдържат антиген, който не съответства на терения щам) или поради неправилно съхранение и прилагане на ваксината. Освен това, както при всички други случаи на ваксиниране, това може да се дължи и на неспособността на отделни животни да придобият защитен имунитет, който да ги предпази от

инфекция, поради някакви имуносупресивни състояния.

Затова при епидемично разпространяващите се болести, като шапа, при които има множество типове подтипове и антигенни варианти на вируса, е важно да се избере ваксинален щам, хомоложен на теренния, за да се изгради стабилен имунитет. Това предполага теренните изолати от цял свят да се изпращат в световната референтна лаборатория за антигенно характеризирание.

Ваксинацията често се разглежда като алтернатива на изкореняването на болестта чрез „stamping out“. Тези две мерки за контрол обаче не са взаимно изключващи се. В случай на избухване на шап, някои животни могат да бъдат унищожени, докато други могат да бъдат ваксинирани. Дори рутинната ваксинация не изключва използването на спешна ваксинация. Ако рутинната ваксинация не е ефективна, може да възникне епидемия и компетентните органи могат да решат да извършват допълнително спешна ваксинация.

На таблицата по-долу са представени критерии, които да се имат предвид при вземане на решение за провеждане на спешна предпазна ваксинация.



Таблица 3: Критерии, които да се имат предвид при вземане на решение за провеждане на спешна предпазна ваксинация:

Критерии	За ваксинация	Против ваксинация
Гъстота на популацията от възприемчиви животни	Висока	Ниска
Клинично засегнати видове животни	Значителен брой засегнати свине	Преимуществено засегнати преживни
Придвижване на потенциално заразени животни или продукти от тях извън защитената зона	Има доказателства	Няма доказателства
Предполагаемо въздушно-капково разпространение на вируса от заразените стопанства	Високо	Ниско или липсващо
Подходяща ваксина	Налична	Не е налична
Произход на огнищата (проследяемост)	Неизвестен	Известен
Кривата на новите случаи	Бързо нараства	Бавно се покачва
Разпространение и разпределение на огнищата	Широко разпространение	Ограничено
Обществената реакция по отношение прилагането на тотален stamping out	Силна	Слаба
Приемане на регионализация след ваксинацията	Да	Не

Зоната на „предпазната“ спешна ваксинация трябва да бъде възможно най-малка, а формата ѝ да е съобразена с географската и метеорологичната ситуация. Вътрешната граница на зоната за ваксинация трябва да бъде ясно дефинирана въз основа на наличните епидемиологични данни и може да включва част от зоната за наблюдение (т.е. зоната, „изложена на риск“), но не и защитената зона. Предоставянето на услуги за клане, събиране на мляко и осеменяване за зоните за ваксинация трябва да се има предвид при установяване на границите на зони с ограничен достъп. Когато такива съоръжения не се съдържат в зоните, е необходим специален контрол, ако се разрешава транспорт от такива зони до тези съоръжения.

5. ПОСТВАКСИНАЛЕН МОНИТОРИНГ

Много държави, които прибягват до спешна ваксинация срещу шап, не наблюдават адекватно ефективността и или не осъзнават колко важно е това или поради липсата на практически опит относно най-добрите практики в контекста на конкретната ситуация, целите и задачите, които се преследват с ваксинацията, а именно (i) намаляване на новите случаи на шап, (ii) елиминиране циркулацията на вируса на шапа и демонстриране на липсата на шап, (iii) поддържане на статут „свободна от шап“ държава или част от нея или (iv) възвръщане на статута си като такава.

Пост-ваксиналният мониторинг е необходим за събиране на данни за здравния статус на популацията и оценка на епизоотичната ситуация, определяне нивото и продължителността на имунитета, ефективността и ефикасността на ваксинацията за откриване на евентуални пропуски, които биха опорочили програмата и за оптимизиране използването на ограничените ресурси за постигане на поставените цели (предотвратяване, ограничаване и изкореняване на болестта). Демонстрирането на ефекта от проведената ваксинация върху хода на заболяването помага да се оправдаят разходите за ваксинацията, а идентифицирането на слабостите позволява да се предприемат съответните корективни действия. Големи суми



обществени и частни пари могат да бъдат пропиленни за неефективни програми за ваксиниране, а фермерите и други заинтересовани страни в животновъдството да бъдат обезкуражени и демотивирани относно перспективите за контрол на шапа.

Мониторингът на програмите за ваксинация и на популационния имунитет са важни компоненти на системата за наблюдение в държави, чийто контрол на шапа се основава на използването на ваксинация. Той се изисква от държавите, които търсят официално признаване от Световната организация за здравеопазване на животните (OIE) на статут „свободни от шап“ с ваксинация и се намират на етап 3 и след това от програмата за изкореняване на болестта (PCP-FMD). Пост-ваксиналният мониторинг освен това, стимулира страните да използват висококачествени ваксини и да разработват такива.

Ето защо при изготвяне на една мониторингова програма трябва да се вземе предвид следното:

- Ако са провеждани някакви мерки за профилактика и борба, мониторинговата програма трябва да служи като средство, за да се установи дали тези мерки са били навременни и ефективни, както е било предвидено по програмата и ако не, защо?
- Мониторинговата програма трябва да даде доказателства за това, дали мерките за контрол са постигнали желаните ефекти за предотвратяване, ограничаване или ликвидиране на дадена болест. Това от своя страна предполага наличието на активна система за събиране на информация, надеждна и бърза система за обявяване на болестите, която не трябва да се основава само и единствено на пасивното събиране на данни.
- Мониторинговата програма трябва да даде възможност за бързо откриване на промени, които биха могли да доведат до опорочаване на програмата за борба с болестите по животните, както и да сигнализира за опасност, когато не са предприети съответни мерки.

При разработване на системата за поствакцинален мониторинг е необходимо да се използват показатели за ефективност и индикатори за успех, които да покажат, че очакваните резултати се постигат с помощта на програмата за ваксинация и които да се основават на:

- очакваната степен на намаляване на циркулацията на инфекцията или на вируса;
- приемливо ниво на заболяемост, под което програмата да се счита за успешна;
- липса на заболяване или циркулация на вируса.

Решенията относно тези показатели за изпълнение обикновено се вземат чрез консултации със заинтересованите страни от публичния и частния сектор, преди да започнат програмите за контрол. Поставянето на постижими резултати е важно и тези резултати трябва да са тези, които ще осигурят постоянната подкрепа на заинтересованите страни.

5.1. Оценка на имунния отговор след ваксинацията

Оценката на защитния имунитет на целевата популация след ваксинацията е в основата на пост-вакциналния мониторинг, тъй като тя е ключов индикатор за ефективността на извършената ваксинация и дали е налице защита или не срещу последваща инфекция. Обаче, интерпретирането на теренните проучвания на популационния имунитет изисква познаване на серологичните отговори, които могат да се очакват от използваната ваксина, както и това как те кореспондират със защитата от заболяване и предаване на вируса. Оценката на имунния отговор към ваксинацията е важна също и за избора на ваксина. Този раздел описва принципите на подбор и интерпретация на резултатите от серологичните методи, използвани в пост-вакциналния мониторинг, както и протоколите за оценка на имунитета след ваксинацията.

Противошапните ваксини предизвикват имунен отговор срещу структурните протеини (SP) на вируса, които изграждат вирусния капсид. Те се използват в серологичните тестове за идентифициране на ваксинираните животни в наивната популация. Съществува



корелация между нивата на тези антитела и защитата, предизвикана от ваксината и е възможно да се установи титъра на антителата, който кореспондира с определеното ниво на защита при ваксинираните животни (36). Тези титри обаче варират между отделните ваксини и различните серологични тестове и от времето след ваксинацията (40). Чрез сравняване на серологичните отговори може да се установи, за конкретна ваксина и серологичен тест, индуцираното ниво на защита у ваксинираните животни, провокирани (чрез заразяване) с жив вирус в тест за ефикасност (3, 37). Този тест за ефикасност дава възможност за оценка на нивото на защита на популацията, дори ако силата на провокацията при полеви условия се различава от тази на провокационния тест.

При липса на достатъчна корелация между нивото на защита и титъра на антителата, установеният в хода на серологичното изследване имунен отговор към ваксинацията въпреки това може да се използва при избора на ваксина и за мониторинг на програмата за ваксинация. Например, чрез проверка на способността на ваксината да предизвика имунна реакция, може да се направи груба оценка на нейното качество и да се гарантира, че въпросната ваксина е в състояние да индуцира имунен антителен отговор, освен това може да се съпостави относителната ефективност на алтернативните ваксини чрез сравняване нивата на антителата, които те индуцират. Серумите от такива опити, могат да се използват също за калибриране на изследванията на ваксинираната популация, например при наблюдение за снижаване нивата на антителата, което може да е в резултат от промени в партидите ваксини или неадекватно съхранение в хладилната верига. В хода на мониторинга на популационния имунитет, серологичните изследвания могат да се използват също за сравняване на имунитета между различни субпопулации, например според възрастта на животните, или за сравняване на ефективността на ваксинациите в различните региони, в случаите, когато не е ясна връзката между серологичните резултати и нивото на защита.

На практика определянето на защитните титри на антителата при шапа се оказва една нелесна задача, тъй като се влияе от многобройни фактори (типа на ваксината, типа и възпроизводимостта на теста, използван за измерване на серологичния отговор, щама на вируса

срещу когото е необходима защита, тежестта на проблема и т.н.). Може да се разгледат различни подходи в решаването на тази задача:

- Когато е определен защитният титър за конкретната ваксина, вирусът който ще се използва за контролното заразяване и вида на използвания тест, което позволява ваксинираните животни да бъдат категоризирани като защитени или не;
- Когато този титър не е известен, но може да бъде оценен по данните от ваксиналните и полевите вирусни щамове, както и от извършването на серологични тестове, включващи подходящи щамове и стандарти;
- При липса на информация за корелацията между серологичните резултати и нивото на защита, когато интерпретацията на резултатите от серологичния отговор позволява да се определи каква част от животните са отговорили с образуването на защитни антитела, които свидетелстват за успешната ваксинация (т.е. постигнато е очакваното ниво на имунитета).

Качеството, безопасността и ефикасността на всяка партида ваксина срещу шап трябва да бъдат гарантирани от производителя (както е описано в Наръчника за сухоземни животни на OIE). Но, независимата от производителя оценка на ваксината, може да даде допълнителна гаранция за нейното качество и пригодността на щама. Тя може също така да посочи очакваното ниво на антитела, което трябва да се съдържа в серума на ваксинираните животни, в различни периоди от време след ваксинацията, определено с помощта на конкретен диагностичен метод. Тази оценка в идеалния случай трябва да се извърши преди по-широко използване на ваксината на терена, а сравняването на ваксини от различни производители може да помогне при избора на подходящия производител (21, 22). Опростена методология, използваща малък брой животни, е предоставена в раздела по-долу.

Освен това е целесъобразно да се проучат серологичните отговори на специфични групи животни, които са ваксинирани на терен, нещо, което може да се направи в хода на ваксинацията или точно преди широкото приложение на същата партида ваксина. Методът, описан по-долу, изисква по-голям брой животни и

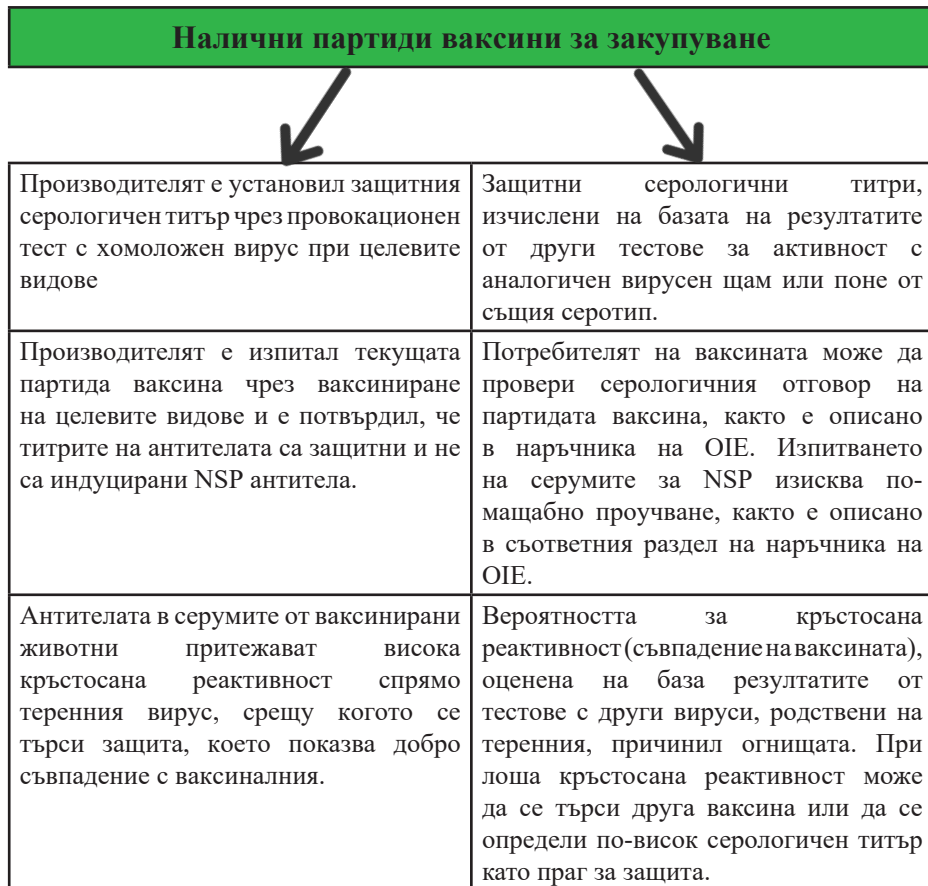


следователно дава по-точна оценка на антителния отговор срещу структурните протеини на вируса, който се очаква от използваната партида ваксина. Той дава възможност и за проверка чистотата на ваксината, чрез оценка на дела на ваксинираните животни, реагирали с антителен отговор срещу неструктурните протеини на вируса (NSP антитела), нещо, което не може да се направи с малък брой животни. Това дава възможност да се събере информация за специфичността, която може да се очаква от NSP-теста, когато се използва за пост-ваксинален мониторинг на популацията за доказване наличието на инфекция.

След като се установи, че ваксината, която ще се използва, предизвиква достатъчен имунен отговор с необходимата сила и продължителност и е избрана подходящата методология за изпитването ѝ, трябва да се наблюдава отговорът на целевата популация на ваксинацията, за да се види дали очакваните нива на имунитет действително са достигнати. Това е основният компонент на пост-ваксиналния мониторинг (PVM). Целевите показатели за популационния имунитет, определени на индивидуално и стадно ниво, трябва да отразяват необходимата степен на защита, при това в райони с висока гъстота на животните и райони с нерегулирани движения на животни, които изискват много по-високи нива на индуцирана от ваксината защита, за да се спре клиничното проявление на заболяването и по-нататъшното разпространение на вируса на шапа. Освен това структурата и динамиката на целевата популация, както вече беше споменато, може да повлияе на желаното ниво на имунитет. Могат да бъдат предприети редица различни подходи за вземане на проби и наблюдение на представителни извадки от животни и стада. Възможно е да се използват кланиците за получаване на кръвни проби за такава оценка, но е желателен един по-систематичен подбор и възможните методи за извършване на това са описани в раздела по-долу.

На фиг. 1 са показани някои фактори и подходи, които следва да се отчитат при предварителната оценка на имунния отговор, индуциран от ваксинацията.

Фигура1: Фактори и подходи, които следва да се отчитат при предварителната оценка на имунния отговор, индуциран от ваксинацията



<p>Производителят доставя серуми от целеви видове, ваксинирани с текущата партида ваксина, за калибриране на серологичните изследвания, използвани за оценка на пост-ваксинационния имунитет на целеви видове на терена.</p>	<p>Серумите, събрани от изпитване, проведено от потребителя на ваксината, могат да се използват за тестово калибриране за оценка на имунитета, дължащ се на ваксинацията при целеви видове на терена.</p>
<p>Потребителят на ваксината може директно да пристъпи към ваксинация на целевата популация и да проведе серологични тестове върху статистическа извадка, за да провери имунните реакции и да оцени вероятността от защита.</p>	<p>Потребителят на ваксината трябва да се консултира с референтна лаборатория за помощ и провеждане на опити като тези, описани в наръчника на OIE. Могат да се изведат по-малко точни оценки за защитния имунитет, предизвикан от ваксинираното поголовие.</p>

5.2. Използване на серологични методи за пост-ваксинален мониторинг

5.2.1. Имунен отговор срещу структурните протеини на вируса

Серологичните тестове, които откриват антитела срещу структурните протеини на вируса (SP тестове), са подходящи за измерване на имунния отговор, предизвикан от ваксинацията. Те включват вирус-неутрализационен тест (VNT) и течно фазна блокадна ELISA (LPBE) (44). Предимство на VNT е, че различни вирусни щамове могат лесно да бъдат включени, за да се направи кръстосано изследване за определяне степента на хомоложност с ваксиналния щам, или с провокативния щам (Таблица III). При LPBE включването на различни тестови вируси е по-сложно, тъй като тестът изисква да се приготви както антиген от един или повече вирусни щамове, така и хиперимунни серуми от заек и морско свинче или моноклонални антитела към избраните вирусни щамове. По-новите тестове като твърдофазната конкурентна ELISA (SPCE) (9, 29) и други модификации на ELISA, базирани на моноклонални антитела (6), могат да предложат предимства по отношение на повтаряемост и по-широка кръстосана специфичност, но може да

липсват данни, които да покажат тяхната корелация с нивото на защита. По отношение на лекотата на използване, VNT трябва да се извършва в лаборатория с подходящо ниво на биосигурност. Тестът е трудоемък и изисква обучен персонал, докато ELISA тестовете могат да се провеждат в обикновена лаборатория без допълнителни мерки за биосигурност. Освен това чрез ELISA тестовете могат да се изследват голям брой проби и не изискват задълбочено обучение на персонала.

Следователно, утвърждаването на напълно валидирани и възпроизводими методи за серологична оценка на ваксините изисква значителни усилия, особено ако са включени голям брой различни ваксинни и полеви щамове (Таблица 4). Независимо от това, страните, които изпълняват програми за контрол на шапа, но нямат оптималния капацитет за избор и тестване на ваксините, а ги получават от доставчици, които предоставят ограничени доказателства за пригодността на ваксините, все пак могат да предприемат полезни, макар и по-малко точни серологични оценки.

Таблица 4: Списък на променливите, които могат да повлияят на надеждността на серологичните резултати и възможните мерки за контрол, които трябва да се вземат предвид

Променливи фактори	Мерки за контрол
Вариабилност в отговорите на животните към ваксинацията	Включете достатъчно животни в проучванията за оценка на имунния отговор на ваксината и за определяне на праговите защитни нива за интерпретация на серологичните резултати.
Вариабилност на резултатите от серологичните тестове в рамките на една лаборатория и между лабораториите, извършващи подобни тестове	Стандартизирайте тестовете чрез включване на референтни серуми и участвайте в междулабораторни тестове за доказване на пригодност.



<p>Вариабилност на резултатите от серологичните тестове поради разлики в антигенната специфичност на тестовите според конкретните вирусни щамове и реагенти, използвани в тестовите</p>	<p>Изберете тестови реагенти, които са подходящи за съответната ваксина или полеви щамове. Като алтернатива, използвайте референтни серуми на съответните вирусни щамове, за да калибрирате тестовите.</p>
<p>Вариабилност на антигенните характеристики на щамовете шапен вирус по причини, които ваксината, която предизвиква защитен имунитет към ваксиналния щам, може да се окаже недостатъчна за защита срещу полевия щам, предизвикал епизоотията</p>	<p>Измервайте антителните отговори както към ваксиналния(ите) щам(ове), така и към щама(овете), срещу които(който) се търси защита, като коригирате специфичността на щама на теста или компенсирате разликите чрез използване на референтни серуми или информация от предходни тестове.</p>
<p>Вариабилност по отношение количеството антитела, необходими за защита срещу различни щамове на вируса на шапа</p>	<p>Установете праг на защита от предходен тест за потентност.</p>

5.2.2. Корелация между титъра на антителата срещу структурните протеини на вируса и нивото на защита

Корелацията между титъра на антителата срещу структурните протеини на вируса (SP) и нивото на защита за ваксиналните щамове, се определя количествено с помощта на провокационен тест на ваксинираните животни с жив вирус и събиране на серуми в определено време след ваксинацията. Серумните нива на антителата, които обезпечават защитата след имунизация с противошапна ваксина, се определят чрез VNT или ELISA (3, 30, 35, 41). Те позволяват рутинното използване на серологията за определяне

на ефикасността на ваксината и нивата на защитния имунитет в рамките на ваксинираните популации животни.

Като пример, *Barnett* и сътр. (3) изследва корелацията между титрите на антителата, измерени чрез VNT и степента на защита, установена чрез провокационните тестове на ваксинираните животни, в съответствие с Европейската фармакопея, за шест серотипа на FMDV. В таблица 5 са обобщени резултатите от тези изследвания на Световната референтна лаборатория за шапа с щамове от серотиповете O, A и Asia 1.

Таблица 5: Обобщение на резултатите от изследванията на Световната референтна лаборатория за шапа

Серотип	Титрите на антителата, изразени в логаритми			
	T_{50}	T_{50} (CI 95%)		T_{95}
O	1.6	1.1	1.7	2.1
A	1.4	1.3	1.6	2.1
Азия-1	1.7	0.4	2.0	2.3
Смесени	1.5	1.4	1.6	2.1

95% CI - доверителен интервал 95%

T_{50} - титър, при който животните са защитени с вероятност 50%

T_{95} - титър, при който животните са защитени с вероятност 95%

N.B. Една ваксина с три PD_{50} трябва да предпазва с вероятност ~75% (21), а логаритмичният титър, който се равнява на T_{75} за горните три комбинирани серотипа е ~1,75

Като втори пример, *Maradei* и сътр. (30) установиха корелационни криви между титрите на SP антителата, използвайки LPBE и очаквания процент на защита 75% (EPP) за четирите ваксинални щамове, използвани в Аржентина. Данните са показани в таблица 6.



Таблица 6: Титър на антителата, определен с течнофазна блокадна ELISA, съответстващ на очаквания процент на защита 75%

Ваксинален щам	Титър на антителата, определен с течнофазна блокадна (LPBE - log ₁₀)
A24 Крузейро	1.9
A Аржентина 2001	2.2
O1 Кампос	2.1
C3 Индаиал	2.2

5.2.3. Имунен отговор към неструктурните протеини

Серологичните тестове, които откриват антитела, насочени към неструктурните протеини на вируса на шапа (NSP тестовете), са подходящи за измерване на имунния отговор към инфекцията, а не към ваксинацията, стига да се използват пречистени ваксини с намалено замърсяване с NSP. Тази оценка е полезна за откриване на циркулацията на вируса в популацията от ваксинирани животни. Мониторингът на имунитета в популацията позволява да се изключат NSP-позитивните животни и да се предотврати разпространението на инфекцията. Тъй като при повторна ваксинация вероятността за индуциране на NSP антитела от ваксината се увеличава, в изследването за доказване наличието на инфекция в рамките на ваксинираните популации, най-подходящи са младите еднократно ваксинирани животни. Потребителите на ваксини могат независимо да проверят степента, до която закупените от тях ваксини индуцират NSP антитела, но тъй като само малка част от животните, ваксинирани с неадекватно пречистена ваксина, реагират по този начин след първата доза от ваксината, такива проучвания изискват голям брой животни и/или проучване отговора на многократно ваксинирани животни (44).

5.3. Малък по мащаб опит за оценка на качеството на ваксината

Ако производителят на ваксината не предостави информация, необходима за оценка на съответствието на предлагания продукт с изискванията, се препоръчва проучване за оценка на очакваната ефективност на ваксината при животни, представителни за целевата популация. Проучването трябва да се проведе преди финализиране на покупката на ваксината. Прост и рентабилен подход е животните да бъдат закупени, ваксинирани и да им бъдат взети кръвни проби на местно ниво, които да бъдат изпратени в референтна лаборатория за измерване на титрите на антителата. В зависимост от наличните съоръжения, експертен опит и финансов ресурс, може да се реши цялото изследване да се направи на място или в референтна лаборатория.

За такава оценка може да се следва следният протокол:

- вид – говеда;
- статус – животните да не са ваксинирани срещу шап и да са свободни от вируса на шапа и да нямат антитела срещу структурните и неструктурните му протеини;
- възраст – от шест до девет месеца;
- пол – без значение;
- брой – пет говеда за всяка партида ваксина, оценена без бустер доза и пет допълнителни говеда за оценка с бустер доза; две неваксинирани контролни говеда във всеки експеримент;
- метод за идентификация – индивидуална ушна марка;
- санитарен надзор – ежедневно;
- настаняване – говедата трябва да се отглеждат в район или място с ниска вероятност от излагане на инфекция от шап и при адекватна биосигурност във фермата;
- условия на хранене и поене – стандартни фуражи за говеда, вода на воля;
- обосновка на тестовата система – целеви вид за шапната ваксина.

Ако телетата са родени от майки, които са били заразени или ваксинирани срещу шап, е необходимо да се изчака докато



антителата, получени от майката изчезнат. Това се случва обикновено до шест месеца след раждането, след което телетата трябва да бъдат проверени за наличието на антитела срещу шап, преди да бъдат включени в изследването. Двете неваксинирани контролни животни трябва да бъдат настанени заедно с ваксинираните животни и да служат като индикатори за наличие на инфекция с вируса на шапа в съоръженията по време на експеримента.

5.3.1. Протокол за провеждане на ваксинацията и вземане на кръвни проби

Протоколът за вземане на проби, описан по-долу, предоставя ключова информация за повишаването и спадането на нивата на антителата след ваксинация:

- Преди ваксинация – Вземете две епруветки от 10 ml с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно;
- Ден 0 – Ваксинирайте групите, определени за ваксинация с единична доза ваксина, както е посочено на етикета на ваксината от производителя;
- Ден 5 след ваксинацията – Вземете две 10-ml епруветки с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно.
- Ден 14 след ваксинацията – Вземете две 10 ml епруветки с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно.
- Ден 28 след ваксинацията – Реваксинирайте с единична (бустерна) доза ваксина пет говеда от групата за ваксинация, както е посочено на етикета от производителя. Вземете пет 10-ml епруветки с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно.

Забележка: При изпитване активността на ваксините провокацията може да се извърши на 21 или 28 ден след ваксинацията (обикновено 21 дни за ваксините на водна основа и 28 дни за ваксините с маслени авюванти). Следователно някои референтни лаборатории са калибрирали своите тестове, за да оценят защитата,

използвайки пост-ваксинални серуми на 21 ден, а не на 28-мия ден след ваксинацията и затова точният момент трябва да бъде договорен чрез предварителна консултация.

- Ден 56 след първата ваксинация – Вземете две 10-ml епруветки с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно.
- По избор шест месеца след ваксинацията – Вземете две епруветки от 10 ml с кръв без антикоагулант за получаване на серум от всяко животно.

5.3.2. Изпитване на антителния отговор у ваксинираните животни

- Серумите от ваксинираните животни трябва да бъдат тествани за наличие на антитела срещу структурните протеини на вируса, за да се оцени нивото на индуцирания имунитет. За да се провери дали животните случайно не са се заразили с вируса на шапа в хода на изпитването, серумите трябва да бъдат проверени за наличие на антитела срещу неструктурните протеини (NSP).
- Подходящи търговски тестове за NSP са лесно достъпни, което улеснява провеждането на локални тестове в страната, провеждаща експеримента с животни.
- Ако страната е в състояние да изпита серумите на ваксинираните животни с комерсиални или предоставени от референтната лаборатория специфични за съответния серотип тестове (LPBE, SPCE или VNT), тогава серумите трябва да се титрират спрямо всички включени серотипове на вируса във ваксината.
- Референтни серуми трябва да бъдат включени за локално тестово калибриране (за предпочитане с титър, равен на 50% защита, определен в експеримент за ефикасност върху животни). Възможно е да се получат такива серуми от референтна лаборатория или серуми от изпитването на партидите ваксини за освобождаване, предоставени



от производителя на ваксината, които също могат да подпомогнат за калибрирането на теста и интерпретацията на резултатите.

- Серумите (особено тези, събрани на 0, 5, 14 и 28 ден) могат също да бъдат изпратени в акредитирана референтна лаборатория за тестване срещу съответните ваксини и полевни щамове (фиг. 2)

5.3.3. Интерпретация на резултатите

- Тестът за антитела срещу NSP на вируса на шапа трябва да даде отрицателни резултати преди и след първата ваксинация, а ако е извършена реваксинация - и след нея.
- И двете контролни животни не трябва да развият антитела срещу NSPs (или срещу SPs на вируса) при изследването.
- Серумите, събрани пет дни след първата ваксинация, не трябва да съдържат антитела срещу SPs на вируса, тъй като това е показателно за анамнестичен отговор, което означава, че ваксинираните животни вече са били заразени или ваксинирани преди това.
- Референтното лабораторно изследване трябва да покаже дали ваксината е предизвикала имунен отговор, който може да обезпечи защитата (вж. Фиг. 3). Например, ако вируснеутрализационен тест (VNT), извършен в Световната референтна лаборатория за шап, отчита среден титър на антителата между 1,2 и 1,6 (при \log_{10}) или с LPBE равен (или по-висок) от 2,0 (при \log_{10}) (17) в серумни проби, събрани 21 или 28 след ваксинацията, това е показателно за адекватен защитен отговор. След това тези гранични стойности могат да се използват при извършване на пост-ваксинални мониторинг (PVM), съгласно методологиите, обяснени по-долу.
- Резултатите от местните тестове също показват защитата, която може да се очаква при широкомащабното прилагане на ваксината на терена.

Броят на животните, използвани в описаната методология

представляват абсолютен минимум. По-надеждна информация може да се получи чрез увеличаване на размера на групата. Като алтернатива може да се извърши малко полево изпитване, като описаното в следващия раздел.

Фигура 2: Схема за използване на серологическите изследвания за определяне на праговите стойности за целите на мониторинга на пост-вакциналния имунитет

Получете серуми от производителя на ваксината от партидното тестване и извършете изследванията в съответствие с този раздел	
Изпратете в референтната лаборатория серуми взети 21-28 дни след ваксинацията	
Референтната лаборатория изпитва серумите за способността им да неутрализират щам(ове) на циркулиращия вирус на шапа в съответния район	
Референтната лаборатория изчислява очакваните показатели за постигане на ~75% защита на животните, въз основа на праговите титри и броя на говедата от изследването, които ги покриват.	
Серуми от изпитване, които имат титри на неутрализиращи антитела около защитния праг, се използват като референтни, за установяване на праговите стойности, които да бъдат използвани в серологичните ELISA тестове, налични в търговската мрежа	
Тези ELISA тестове се използват за широкомащабни изследвания на популационния имунитет	



Пример за тълкуване на вероятността от защита въз основа на нивото на индуцираните антитела:

Пет говеда са имунизирани с ваксина от серотип А. Две неваксинирани говеда са оставени като контроли. Серуми от тях са взети 21 дни след ваксинацията и са изследвани в референтната лаборатория, използвайки два вируснеутрализационни теста (VNT), единият - с вирус, хомоложен на ваксиналния (A1), а другият - с вирус, хетероложен на ваксиналния (A2), за който е известно, че циркулира в региона. Вероятността за защита, индуцирана от ваксината срещу хомоложния и хетероложния щам, се изчислява както е показано по-долу.

Таблица 7: Обобщение на титрите, които корелират със защитата (*Barnett* и сътр. (2003)):

Серотип	Титър изразен в логаритми (\log_{10})			
	T_{50}	T_{50} (95% CI)		T_{95}
A	1.45	1.326	1.56	2.567

T_{50} – титър при който животните са защитени с вероятност 50%

T_{95} - титър при който животните са защитени с вероятност 95%

95% CI - 95% доверителен интервал

Таблица 8: Индивидуални титри на антителата 21 дни след ваксинацията, оценени с помощта на вируснеутрализационен тест (VNT) при използването на хомоложен (A1) и хетероложен (A2) тестови вирус.

Идентификационен номер на животното	Вирус-неутрализационен титър	
	A1	A2
1	1.81	1.34
2	1.51	0.90
3	1.20	1.04
4	1.34	1.20
5	1.81	2.11

Таблица 9: Средни геометрични титри и очаквана вероятност за защита след ваксинацията при заразяване с хомоложен (A1) и хетероложен щам (A2) на вируса на шапа

Серотип	Титър на неутрализиращи антитела	Титрите в логаритми	Очаквана вероятност на защита	Коефициент р*
A1	1:34	1.53	0.73	0.125
A2	1:21	1.32	0.48	0.529

*Р стойност <0,05 показва, че очакваната вероятност за защита е значително по-висока от тази, която се очаква да защити 50% от животните

5.4. Оценка на имунните отговори при ваксинирани животни в полеви условия

Това изследване се провежда в полеви условия, след като ваксината е вече избрана, за да се получи по-добра представа за това, как тя ще се държи на терена в по-голяма група животни от тази, използвана при изпитването, преди покупката. Ако няма предварително изискване за провеждането на такова изпитване преди закупуването на ваксината, тогава това полево изпитване може да служи и за калибриране на серологичните тестове, след закупуване на ваксината. Това е дългосрочно изследване, в хода на което избрана група животни се ваксинират и наблюдават в течение на определен период от време.

Предложеният протокол е предоставен в този раздел, а статистическата информация е обяснена по-подробно в Приложение 2.

Изследването има следните цели:

- да предостави точна оценка на дела на животните, които на 28-ия ден след ваксинацията ще развият титър на антитела срещу структурните протеини на вируса (SP), равен или по-висок от предварително определеното ниво;
- да осигури точна оценка на дела на животните, които ще



поддържат титъра на антителата срещу SP, равен или по-висок от предварително определеното ниво за период от 56 и 168 дни след първата ваксинация;

- да осигури точна оценка на диапазона и средния антителен отговор на 28, 56 и 168 дни (след първата ваксинация);
- за да се посочи дали ваксината предизвиква или не имунен отговори с антитела срещу неструктурните протеини на вируса (NSP) при ваксинираните животни.

В зависимост от наличните данни, тези изследвания могат да се използват за оценка на защитата, както следва:

- В случаите, в които страните нямат данни за корелация между серологията и нивото на защитата, резултатите от тези проучвания (средна стойност, разпределение и 95% доверителен интервал (95% CI) на титрите) могат да помогнат за установяване на временни гранични стойности, за да се използват в по-широкомащабни серологични изследвания.
- Когато страната разполага с достатъчно данни, за да определи предварителни прагови нива, като например „силно защитени“ и „слабо защитени“, основният очакван резултат би бил делът на животните във всяка една от тези две групи. В допълнение към средната стойност, разпределението и 95% CI на титрите ще помогнат за прецизиране на праговите стойности.
- Когато страната е установила корелация между титрите и нивото на защита, резултатите ще позволят да се оцени очакваното ниво на защита на животните от ваксинираната популация при полеви условия.

Оценката на имунния отговор към ваксинацията за шап изисква серонегативни животни и стопанство или ферма, където ваксинираните животни могат да бъдат наблюдавани при условия, които минимизират риска от заразяване с вируса. В страните с висока честота на проявление на шапа (стадий 1 или 2 от етапа на

изкореняването) и/или където ваксинацията е широко използвана, може да е трудно да се намерят животни без антитела срещу вируса в резултат на придобит активен или пасивен (коластрален) имунитет. В такива ситуации, за да се гарантира ниска вероятност от заразяване с шап, докато мониторингът е в ход, епидемиологичните единици могат да бъдат избрани въз основа на данните за липса на заразяване с шап през предходните две години.

За оценка на имунния отговор при ваксинирани животни при полеви условия може да се използва следният протокол:

- препоръчителен дял животни от популацията във възрастовата категория от 6 до 12 месеца – 85%, които се очаква да развият конкретно ниво на антитела;
- допустима стандартна грешка – 10%;
- ниво на доверие – 95%.
- Въз основа на горните стойности, за изследването са необходими 49 животни.
- Увеличете размера на извадката до 55 животни, за да компенсирате евентуално отпадане или изтегляне на животни поради предишно заразяване с вируса или проблеми с анализа на пробата.
- Животните на възраст от 6 до 12 месеца, за които е известно, че нямат антитела срещу ваксинални щамове на вируса на шапа (NSP и SP), трябва да бъдат подбрани или на случаен принцип (произволно) или чрез систематичен произволен подбор.
- Изберете достатъчен брой епизоотологични единици за изпитването, за да постигнете статистически значимия брой животни в извадката. В идеалния случай избраните единици трябва да имат малък шанс да бъдат изложени на полеви щамове на шапния вирус (не е открит шап през последните две години), за да не се смеси ефектът на ваксината с ефекта, дължащ се на излагане на животните на полевия вирус.



- Животните трябва да бъдат индивидуално идентифицирани.
- Вземете кръвни проби в дни 0 (време на първата ваксинация), 28 (време на реваксинацията - бустерната доза) и на 56 и 168 ден от първата ваксинация.
- Пробите трябва да се изследват за:
 - Определяне титрите на антителата срещу SP на хомоложния ваксинален вирус (не трябва да се открият антитела срещу вируса на шапа на ден 0). Също така е препоръчително да се измерват титрите на антителата срещу SP на полеви щам(ове) шапен вирус, за да се оценят мерките за защита срещу циркулиращи вируси.
 - Докажете отсъствието на антителата срещу NSP на вируса на шапа по време на полевия опит.
 - Изчислете дела (и неговия доверителен интервал) на животните, които са реагирани със специфични титри на антителата (или дела на животните, които са развили титър на антителата, равен на или над прага, който се счита за защитен).
 - Изчислете средния специфичен титър на антителата в различните времеви точки. Оценката се счита за успешна само, ако животните са отрицателни в началото както за антителата срещу SP, така и за NSP на вируса на шапа. Доказването на антителата срещу NSP на вируса на шапа (сероконверсия), в който и да е момент, показва възможна инфекция или липса на чистота на използваната ваксина.

Резултатите от такова теренно проучване трябва да предоставят информация за:

- очакваната част от животните, които ще развият определено ниво на антителата след прилагане на единична доза от ваксината,
- оценка на ефекта от бустер дозата, и

- продължителността (и нивото) на титрите на специфични антитела във времето. В комбинация с данни за покритието на ваксините (ако има такива), тя може да се използва за оценка на очаквания дял на животните със определено ниво на антитела на ниво популация. Това отчасти отговаря на целите на проучванията, въпреки че е възможно в страни, ендемични за шап, имунният статус на популацията да бъде комбинация от настоящи или предишни програми за ваксинация и предишно заразяване с полеви шамове на шапния вирус. Освен това са необходими по-широки полеви проучвания, за да се открият регионалните различия в прилагането на ваксините и индуцирания имунитет.

Съпоставянето на серологичните титри спрямо нивото на антителата, считано за защитно, може да послужи и за оценка ефикасността на ваксината, която в този случай съответства на дела на индивидите, които са развили имунен отговор, равен на или над защитния титър.

Не са много държавите, които са в състояние да установят праговете титри на антителата и да разграничат по-добре и по-малко защитените животни. Въпреки това, някои страни може да имат полезна информация от производителя на ваксината или от експерти за това, кое ниво на антитела може да се счита за приемливо. При такива обстоятелства количествената оценка на средния титър на антителата (и неговия 95% доверителен интервал) може да помогне за установяване на временни гранични стойности.



5.5. Поствакцинален мониторинг за оценка на имунитета на популационно ниво

Популационният имунитет е делът (в проценти) на животните с имунитет в цялата, възприемчива към шап популация или поне тази част от нея, която е била обект на мерките за контрол на заболяването. Той зависи от обхвата на ваксинацията и процента на животните, които са отговорили на ваксинацията, както и отразява други източници на придобития имунитет, а именно: предишна инфекция, по-ранна ваксинация или антитела, получени от майката. В страни в които инфекцията все още е често срещана, могат да се очакват значителни нива на пост-инфекциозен имунитет (обикновено 15–30% или повече), докато в страни на по-късни етапи от ликвидиране на болестта, пост-инфекциозният имунитет е малко вероятно да бъде важен компонент на общия имунитет на популацията.

В раздела, посветен на обхвата на ваксинацията беше подчертано, колко важно е да се уточни, когато се планират серологичните изследвания и интерпретират резултатите от тях, касаещи популационния имунитет, дали целта е да се вземат проби само от ваксинираните животни или от цялата популация. В приведенения пример по-долу, цялата популация се състои от общо 30 говеда. Популацията, отговаряща на условията за ваксинация, е подгрупа от тази популация, включваща 24 говеда. От тези 24 говеда, 20 са ваксинирани, от които 14 са изградили надпрагови титри на защитни антитела срещу вируса на шапа. Тези антитела може да се дължат или на ваксинация или на инфекция и е необходимо да се диференцират (с т.нар. DIVA - тест), като се изследват за антитела както срещу SP, така и срещу NSP на вируса на шапа, тъй като ваксинацията трябва да индуцира само антитела срещу SP, докато инфекцията ще индуцира антитела, както SP, така и срещу NSP. Някои възможни причини за наличието на неимунни говеда сред ваксинираната популация са:

- не са ваксинирани, въпреки че отговарят на условията – не е намерен в къщи по време на кампанията, твърде див за ваксинация, късна бременност, собственикът не сътрудничи и т.н.;

- не са ваксинирани, защото не отговарят на условията (например под минималната възраст);
- ваксинирани, но без имуен отговор – зависи от ефикасността на ваксината, начина на прилагането на ваксината (ниска доза, разлята доза), срока на годност на ваксината, хладилната верига и т.н.;

Причините, животните да бъдат изключени от ваксинираната популация, включват:

- недостатъчно налични дози ваксина;
- говеда, които не отговарят на условията за ваксинация, например твърде млади;
- едър рогат добитък, нововъведен от неваксиниран източник, например внос.

Таблица 10: Примерна популация, показваща съотношението между влизащите в нея неваксинирани, ваксинирани и ваксинирани, но не имунни животни

Големина на популацията – 30 говеда	Обхватът на ваксинацията е 20 от 24 = 83%
Подлежащи на ваксинация – 24 говеда	Процентът на ваксинираните говеда от популацията, реагирани на ваксинацията е 14 от 20 = 70%
Ваксинирани – 20 говеда	Процентът на ваксинираните говеда от тази популация е 20 от 30 = 67%
Изградили имунитет – 14 говеда	Процентът на говедата с имунитет в популацията като дял е 14 от 30 = 47%

Общият имунитет (ОПІ) на целевата популация е най-добрият индикатор за това, колко лесно вирусът може да се разпространи и да причини заболяване, докато имунитетът на ваксинираната популация (VPI) е полезен показател за отговора към ваксинацията, който в съчетание с данните от обхвата на ваксинацията, дава цялостната картина за качеството на програмата за ваксинация.

Както вече беше споменато, популационният имунитет, постигнат по всяко време чрез програма за ваксинация, може да бъде повлиян от структурата и динамиката на цялата възприемчива популация, подлежаща на ваксинация и ако между двете ваксинационни кампании, оборотът на животните е особено високо, тогава общото ниво на имунитета може да варира с течение на времето и степента на защита и в един момент да се окаже недостатъчен за прекъсване веригата на предаване на инфекцията (ако се въведе шапния вирус).

Оценяването на популационния имунитет е важно, както за оценка на дела на животните със защитно ниво на антитела, така и за тяхното разпределение. Наличието на групи (кълъстери от индивиди) с ниски титри на антитела може да способства за въвеждането и поддържането на циркуляцията на вируса в популацията. Това от своя страна показва, че в различните технологии на отглеждане на животните, може да се приложи различно планиране на кампанията (напр. в големи свинеферми). Идентифицирането на такива високорискови кълъстери (ферми, села и т.н.) може да помогне за разбирането на епизоотологията на болестта и за подобряване на програмата за ваксинация.

Има два основни подхода за оценка на имунния статус на популацията:

1. оценка на имунния статус на ниво индивидуално животно; или
2. оценка на имунния статус на ниво епизоотологична единица (например стадо или село).

Двата подхода имат различни методологични изисквания, така че обикновено се прилага едната или другата методология, но не и двете. Като цяло оценката на имунния статус на ниво индивидуално животно се препоръчва винаги, когато ваксинацията се извършва в страни, квалифицирани на етап 2 или 3 от програмата за изкореняване на шапа, когато все още се очаква вирусът да циркулира, докато оценката на имунния статус на ниво епизоотологична единица се препоръчва на един по-късен етап на този процес, когато очакванията за циркулация на вируса са ниски и страната постига (или вече е постигнала) официален статус на свободна от шап с или без ваксинация.

Какъвто и подход да бъде възприет, типът изследване, което трябва да се приложи, ще попадне в категорията секционно, при което пробите от животните се вземат в определен момент от време.

Подробности за използваните в изследването статистически методи и примери са дадени в приложение 2.

Целта е да се оцени или дела на животните с определено ниво на антитела или дела на стадата или епизоотологичните единици, в рамките на които се очаква процентът на отделните животни да бъде над определен праг, поради което групата да се счита за защитена. Времето за индивидуално вземане на пробите ще зависи от това кой тип информация трябва да бъде получена. Ако приемем, че кампаниите за ваксинация се провеждат редовно на всеки шест месеца, тогава като цяло има два възможни сценария:

1. да се вземат проби по време на ваксинацията (което ще позволи оценка на имунитета в началото на кампанията, както и на остатъчния имунитет от предишни кампании);
2. пробите да се събират в определен момент от време след ваксинирането на животните (кръвни проби, взети от един до три месеца след ваксинирането на животните, ще позволят оценка на имунитета на най-високото му ниво).

Могат да се вземат проби от животни в два различни момента във времето, за да се оценят промените в популационния имунитет.



Пример за това е вземането на проби в ден 0 (денят на ваксинацията) и отново един до три месеца след това, за да се покаже повишаване нивото на популационния имунитет. Трябва да се отбележи, че ако се извършва такова двойно вземане на проби, не е от съществено значение дали пробите са взети от едни и същи животни за изследване в двата кръга.

Трябва също така да се отбележи, че предложената оценка се различава от описаната по-горе, тъй като тя е насочена към изследване показателите на отделните животни, независимо от техния ваксинационен статус (т.е. за оценка на общия имунитет - ОПИ). На теория могат да бъдат взети проби от животни на възраст под 6 месеца, но на практика обикновено се оценяват само две или три възрастови категории, а именно 6–12 месеца, 12–24 месеца и над 24 месеца. Обосновката за включването на най-младата възрастова група зависи от целта на изследването и от това дали се предполага с негова помощ получаване на оценка на защитното ниво на антитела, придадени чрез коластрата, и да се определи оптималната възраст за първична ваксинация. На практика, ако една от задачите включва оценка нивото на имунитета у младите животни, които не отговарят на условията за ваксинация, тогава изследванията трябва да бъдат насочени към четири възрастови групи, като големината на извадките са посочени в следващия раздел. Ако проучването бъде ограничено само до онези възрастови групи, които отговарят на условията за ваксинация, от него трябва да се изключат животните под шест месечна възраст, при което размерът на извадките за трите разглеждани възрастови групи остава непроменен.

Следните методи могат да се използват за установяване на праговете за приемане на серологични измервания на имунитета. Те постигат различни цели и изискват различна предварителна информация. За по-голямата част от тестовете може да се използва един метод, допълнен от алтернативни тестове върху подгрупа от събраните серуми. Крайната цел е да се осигури защита срещу болестта в реални условия, а третият подход е най-близо до измерването на това ниво.

- Демонстриране, че ваксината в полеви условия е толкова

ефективна, колкото при контролирани условия и че животните са били успешно имунизирани с ваксина, с напълно запазени свойства. За този подход използвайте пост-ваксинационни серуми от контролните проучвания (като описаното по-горе), за да осигурите еталонно ниво на очаквания имунитет. Тези контролни серуми трябва да бъдат събрани по едно и също време след ваксинацията с тези, използвани за изследването на популацията. Независимо от вида на използвания тест за доказване на антитела срещу SP на вируса и на използваните щамове, очакването е да се получат аналогични титри на терена като гаранция за ефективността на ваксината.

- Демонстрация на това, че ваксинацията е предизвикала в имунизирани животни достатъчен имунитет за защитата им от заразяване с вирусен щам, хомоложен на този, съдържащ се във ваксината. Използвайте SP тест, с вирус, хомоложен на ваксиналния и използвайте праг, определен или чрез тест за хомоложна ефикасност, или оценка, получена от калибриращи серуми или въз основа на минал опит от теста.
- Доказване, че ваксинацията е предизвикала достатъчен имунитет за защита на имунизирани животни срещу заразяване с вирусен щам, циркулиращ в региона и който може да е заплахата. Използва се тест за антитела срещу SP на локално циркулиращия вирус (или еквивалентен щам), като показателите се сравняват с праговете стойности, определени или чрез хетероложен тест за ефикасност или чрез оценка на нивата, получени от изследването на калибриращите серуми или въз основа на предишни опити с този метод.



5.5.1. Пост-ваксинален мониторинг за оценка на популационния имунитет на ниво индивидуално животно

- Предложени стойности за очаквания дял на животните със защитно ниво на антитела в следните възрастови групи:
 - възраст 0–6 месеца – очакван дял 60%;
 - възраст 6–12 месеца – очакван дял 70%;
 - възраст 12–24 месеца – очакван дял 80%;
 - възраст > 24 месеца – очакван дял 90%
- Допустима стандартна грешка – 10%.
- Ниво на доверие – 95%.

Въз основа на горните стойности ще се изисква следният брой епизоотологични единици за всяка от възрастовите групи:

- възраст 0–6 месеца – 26 епизоотологични единици, по 10 проби от единица (общо 260 проби);
- възраст 6–12 месеца – 26 епизоотологични единици, по 7 проби от единица (общо 182 проби);
- възраст 12–24 месеца – 26 епизоотологични единици, по 4 проби от единица (общо 104 проби);
- възраст > 24 месеца – 26 епизоотологични единици, по 2 проби от единица (общо 52 проби).

След това, за това изследване ще са необходими общо най-малко 598 кръвни проби (което ще намалее до 338, ако възрастовата група шест месеца и под нея не бъде взета предвид).

Размерът на извадката трябва да бъде увеличен с една допълнителна епизоотологична единица на група, за да се компенсират възможните изтегляния.

Изборът на епизоотологичните единици зависи от рамката за вземане на проби:

- Ако съществува надежден списък с епизоотологичните единици и информация за приблизителният брой животни във всяка единица (и тяхното разпределение в четирите

възрастови групи), тогава епизоотологичните единици могат да бъдат избрани с вероятност, пропорционална на размера на единиците (PPS), като се вземе предвид че PPS може да е различен за всяка от четирите възрастови групи, разглеждани за вземане на проби. Ако е била използвана тази процедура за избор на първични единици за вземане на проби (PSU), тогава анализът на пробите може да се проведе като се използва процедурата, описана в приложение 2 (пример II.a – опция 1).

- Ако е наличен само надежден списък с епизоотологичните единици, тогава те могат да бъдат избрани чрез проста произволна извадка (SRS). Ако е била използвана тази процедура за избор на PSU, тогава анализът на пробите може да се проведе, като се използва процедурата, описана в приложение 2 (пример II.a – вариант 2);

Във всяка избрана епизоотологична единица животните от всяка възрастова група могат да бъдат избрани на случаен принцип, чрез проста произволна извадка (SRS) или с помощта на систематично произволно вземане на проби.

Кръвните проби трябва да се вземат съгласно установената процедура (по време на ваксинацията и/или по всяко време) и да се анализират, за да се:

- определи дела на животните с антитела срещу SP на хомоложните ваксинални щамове и антитела срещу NSP на вируса. Също така е препоръчително да се измерват титрите на антителата срещу SP на полеви щам(ове), за да се измери защитата срещу циркулиращия вирус.
- определят средните титри на антителата срещу SP.
- изчисли нивото на антителата срещу SP и доверителния интервал за всяка възрастова група така че:
 - Ако епизоотологичните единици са избрани с PPS, тогава следва да се използват уравнения 13, 14 и 15 (в приложение 2);
 - Ако епизоотологичните единици са избрани чрез SRS, тогава следва да се използват уравнения 16, 14 и 17 (в приложение



- 2). Предложената процедура се основава на допускането, че минималната възраст за ваксиниране е шест месеца и че кампаниите ще се провеждат на всеки шест месеца. Възрастовата група животни до шест месеца се изследват за обща оценка на имунитета. Тя ще позволи също така да се оцени наличието на майчини антитела и как пасивният имунитет допринася за общия имунитет на популацията.
- Предложеният размер на извадката е оценен за различни очаквани съотношения (от 60% до 90%), като се приема, че когато се извършва редовна ваксинация, делът на животните с антитела срещу SP на вируса прогресивно ще се увеличава с нарастване на възрастта. Трябва също да се отбележи, че, за да се съобразите със статистическата теория по отношение на безпристрастните оценки на параметрите, броят на първоначално определените единици, от които ще се вземат проби, трябва винаги да бъде над 25 епизоотологични единици (13).

Тези цифри могат да се променят (следвайки процедурите, описани в приложение 2). Например, ако се изисква по-голяма точност, тогава допустимата грешка може да бъде намалена до 5%, което от своя страна ще увеличи размера на извадката (броя на пробите, които трябва да бъдат взети). Основното ограничение ще бъдат ресурсите, налични в рамките на държавата за провеждане на такива проучвания. Начинът, по който се избират епизоотологичните единици (или чрез използване на PPS или чрез SRS процедура) ще повлияе на начина, по който може да бъде оценен делът на положителните животни (и неговия доверителен интервал) (вижте приложение 2 за подробности по този въпрос).

5.5.2. Пост-ваксинален мониторинг за оценка на популационния имунитет на ниво стадо

В страни, където основната цел на ваксинацията е да намали честотата на клинично проявените случаи на шап (обикновено съответстваща на етап 2 от програмата за изкореняването му), този подход не се препоръчва, тъй като се очаква значителна част от животните да покажат наличие на антитела, поради предишно заразяване с полевия вирус.

Въпреки това е полезно да се оцени имунитета на ниво стадо, където очакването за серопозитивност се дължи главно (ако не и изключително) на прилагането на ваксината и така тази методология е подходяща за страни, в които се реализира сценарий В (много от които са на етап 3 от програмата за изкореняване на болестта PCP-FMD), както и за страни в сценарии С и D.

Целта е да се оцени дела на епизоотологичните единици с неудовлетворителни резултати от ваксинацията (NAVEU). Това предполага, че епизоотологичната единица може да бъде определена като „адекватно ваксинирана“, ако определен процент от животните в нея са със защитно ниво на антитела.

За да се оцени размерът на извадката в рамките на всяка епизоотологична единица, е необходимо да се установи прагово ниво, под което епизоотологичната единицата се счита за незащитена:

- предполагаем дял на NAVEU – 20%;
- допустима стандартна грешка – 10%;
- ниво на доверие – 95%;
- целева прагова стойност за дефиниране на една епизоотологична единица като NAVEU е, когато делът на животните с титър на специфични антитела е:
 - по-малко от 60% във възрастовата група между 6 и 12 месеца, и
 - по-малко от 70% сред възрастовата група от 12 до 24 месеца;
- вероятност за откриване на 0 животни с титър на антителата, не по-нисък от определения защитен титър $\leq 0,05$ (във всяка от двете възрастови групи).



- Въз основа на горните целеви стойности, са необходими 62 епизоотологични единици, като в извадката от всяка група трябва да има по три животни на възраст 6–12 месеца и по две животни на възраст 12–24 месеца.
- Увеличете размера на пробата до 70 епизоотологични единици, за да компенсирате животните, които преди това са били изложени на полевия вирус или са показали проблеми с анализа на пробата.
- Изберете броя на епизоотологичните единиците по SRS.
- Във всяка избрана епизоотологична единица животните се подбират чрез SRS или на базата на систематично произволния принцип.
- Вземете кръвни проби съгласно установената процедура (по време на ваксинацията и/или по всяко време).
- Анализирайте пробите за:
 - Определяне титрите на антитела срещу SP на хомоложни ваксинални щамове. Също така е препоръчително да се измерват титрите на антителата срещу SP на теренните щам(ове), за да се измери защитата срещу циркулиращия вирус.
 - Определете наличието на антитела срещу NSPs на вируса на шапа (като се изключат всички епизоотологични единици, в които резултатите от теста показват вероятност от инфекция).
 - Индивидуална епизоотологична единица се класифицира като NAVEU, ако сред трите взети проби от животни на възраст от 6 до 12-месеца или сред двете проби от 12 до 24-месечни животни не са открити SP положителни.
 - Изчислете дела на NAVEU и неговия доверителен интервал:
 - Използвайте уравнения 3 и 4 (от приложение 2).

Важно е допълнително да се подчертае, че вземането на проби е ограничено само до онези възрастови групи, които отговарят на условията за ваксинация, и категоризирането на отделното стадо като NAVEU ще се основава на констатациите в тези избрани възрастови групи. Следователно този подход не предоставя информация за цялостното ниво на защита в стадата.

Размерът на извадката, както е оценен в горния пример, може да бъде променен и коригиран към местните условия и в зависимост от това коя възрастова(и) група(и) се счита за най-информативна. Основното предимство на този подход е, че ще изисква определен брой проби, който е значително по-малък от този, изискван от методологията, описана по-горе и освен това дизайнът и анализът на изследването са значително опростени.

5.6. Контролен списък за мониторинг на пост-вакциналния имунитет

- Получаване на доказателства за ефикасността на ваксината и по възможност на пост-вакцинационни серуми от изпитването на партидите за ефективност от производителите на ваксини преди пускането им за продажба.
- Установяване на прагови нива за серологичните тестове, като се вземат предвид влиянието на вариабилността на имунните отговори на животните, възпроизводимостта на тестовете и антигенните свойства на ваксините, полевите и тестови вируси.
- Преди закупуване на ваксината, да се проведат изследвания на индуцирания от нея имунитет върху малка група местни животни и след ваксинацията - на група животни от терена.
- Да се следи нивото на популационния имунитет в региона, за да се определи дали ваксинацията е приложена правилно и дали може да се очаква защита срещу шапа.

Таблицата по-долу обобщава някои от показателите, описани по-горе, както и информация за тяхното използване във връзка с изпълнението на кампанията за ваксинация.



Таблица 11: Показатели във връзка с изпълнението на кампанията за ваксинация.

Показател	Възможно значение
<p>Покритие (обхват) на ваксинацията в конкретен момент от началото на кампанията – OVC (%)</p>	<p>OVC показва дали ваксинационната кампания протича с планираната скорост или не. Например, ако кампанията за ваксинация е била предвидена да приключи за два месеца, може да се очаква, че за един месец тя трябва да е изпълнена приблизително на 50%. Според знаменателя, използван за оценка на OVC може да се изясни дали животните, подлежащи на ваксинация са ваксинирани в съответствие с плана и за обхвата с ваксини на цялата популация.</p> <p>Комбинирането на OVC с проучвания като това, предложено в раздела за оценка на имунния отговор у ваксинираните животни при полеви условия, може да даде представа за очакваното ниво на имунитет на популационно ниво.</p> <p>Ниските стойности на OVC не означават непременно, че кампанията протича бавно; всъщност знаменателят на индикатора е прогнозираната популация в началото на кампанията и ако този брой е бил надценен, това ще генерира фалшиво ниски стойности на OVC. Обратното ще се случи, ако популацията на животните е била подценена.</p>

<p>Покритие (обхват) на ваксинацията във фермите по всяко време –</p> <p>OCW (%)</p>	<p>Този показател зависи от структурата на популацията, подлежаща на ваксинация. Това съотношение зависи от структурата на популацията, която ще бъде ваксинирана. Ако голяма част от животните не отговарят на условията за ваксиниране поради възрастта си, това ще повлияе на стойността на OCW. Стойностите на OCW около 80% може да подсказват, че популацията е структурирана по такъв начин, че приблизително 20% от животните във всеки един момент ще са на възраст, която не отговаря на условията за ваксинация. Ако стойностите са постоянно под 70%, може да се наложи да се преразгледа графикът за ваксинация и възрастта, на която животните следва да бъдат ваксинирани за първи път, може да бъде намалена.</p> <p>Знаменателят на OCW, изчислен в края на ваксинационната кампанията, може да се сравни с общия брой животни, определен преди началото на кампанията, за да се оцени колко далеч са оценките от това, което действително е открито. Имайте предвид, че знаменателят на OCW в края на кампанията (когато теоретично са посетени всички стада) може да предостави информация за структурата на популацията и може да се използва за планиране на необходимия брой дози за следващата кампания.</p>
---	---



<p>Общ процент на животните, които са получили бустерна ваксинация в който и да е момент от началото на кампанията ORD (%)</p>	<p>ORD е делът на животните във възрастовата група от 6 до 12 месеца, които са получили правилно бустерната доза ваксина. Знаменателят на ORD са всички животни, които вече са получили поне една доза и по този начин ниските стойности могат да показват, че животни, открити по време на първото посещение (и ваксинирани), са били трудни за намиране при следващото посещение.</p> <p>Приемливата стойност на ORD може да бъде 90%, а стойностите, които надвишават 100%, показват, че има някои проблеми при попълването на формулярите от ваксинатора (ORD не може да бъде по-висока от 100%).</p> <p>Броят на животните, които не са получили бустерна доза, се оценят с формулата 1-ORD (или 100-ORD%, ако се използват проценти).</p>
<p>Дози ваксини (брой) изпратени на лицата, които провеждат ваксинацията RCV (%)</p>	<p>Дозите, в края на ваксинационната кампания се съпоставят с дозите, заредени преди началото на кампанията. Колкото по-близо е този процент до 100%, толкова по-добра е оценката за планираните дози, необходими за кампанията.</p> <p>Ниските стойности на RCV могат да показват или неправилна преценка на необходимите дози, или недостатъчни доставки до ваксинаторите (въпреки че кампанията е трябвало да приключи).</p>
<p>Дози ваксини (брой), изпратени на лицата, които провеждат ваксинацията на месец - RMV (%)</p>	<p>RMV е сходен с RCV, като основната разлика е, че RMV се изчислява за специфични интервали от време. С постоянен брой дози, изпращани във всеки интервал, RMV трябва постепенно да се увеличава по време на изпълнението на кампанията.</p>

<p>Кумулативен процент на използване - RUV (%)</p>	<p>RUV показва степента на използване на ваксината за всеки избран интервал от кампанията. Стойности на RUV близо до 100% показват, че от ваксината, изпратена на ваксинаторите, висок процент действително е бил приложен на животни. RUV може да се използва за оценка на процента на загубата ($1 - RUV$, т.е. дялът на дозите, които са били върнати от ваксинаторите и не могат да бъдат използвани). Високият процент загуба може да показва, че броят на дозите във флаконите с ваксина е твърде висок в сравнение със средния брой животни, които трябва да бъдат ваксинирани във всяка отделна ферма/домакинство, което прави невъзможно използването на всички дози в един флакон.</p>
--	---

5.7. Мониторинг върху въздействието на ваксинацията и другите мерки за контрол на шапа

Резултатите от серологичните изследвания за имунитета, както е описано по-горе, не предоставят пряко доказателство за това, че е постигната целта, за която е приложена ваксинацията (т.е. контрол на шап), така че е важно също да се следи за появата на нови огнища на шап и/или инфекция. Въпреки това, тъй като шапа е характерно да се проявява на пристъпи, с вълни от инфекция, следвани от интервали на покой, липсата на огнища за определен период не може да се приема като гаранция за ефективност на програмата за ваксинация. Следователно е необходимо наблюдение както на популационния имунитет, така и за появата на огнища и/или инфекция.

В повечето случаи ваксинацията се явява само един от многото други елементи на цялостната програма за предотвратяване, ограничаване и ликвидиране на шапа и следователно може да се окаже трудно, дори невъзможно да се разграничи и оцени самостоятелно ефекта от ваксинацията от другите мерки за контрол.



Контролът върху придвижването на животни и продукти от тях, на фуражи, превозни средства, хора, засилване на мерките за биосигурност, както и ликвидиране на болните и контактните животни, обезвреждането на тора и трупове на умрелите животни, провеждане на ДДД мероприятия, обикновено са част от механизма за реакция за предотвратяване на проникване и по-нататъшно разпространение на вируса и появата на вторични огнища, докато спешната ваксинация се явява само като допълнителна мярка за смекчаване на въздействието на вируса на шапа, ако се появи в района, предвиден за ваксинация, поради високата гъстота на възприемчиви животни, за да се спечели време за организиране на останалите мерки.

Следователно оценката на ефективността на програмата за контрол, ще бъде резултат от комбиниран ефект от ваксинацията (ако такава се използва) и другите мерки.

5.7.1. Мониторинг върху обхвата на ваксинацията

Обхватът на ваксинацията, необходим за спиране на разпространението на шапа в стадото, зависи от броя на случаите, които един случай генерира средно по време на своя инфекциозен период в напълно възприемчива популация (индекс, познат като основно репродуктивно число, R_0). Стойността на R_0 ще зависи от естеството и броя на ефективните контактни структури и ще бъде толкова по-голям, колкото по-голям е броя на силно податливите животни, които имат редовни възможности за контакт. В стадо, в което животните са напълно възприемчиви към шапа и се отглеждат в затворени помещения, стойностите на R_0 са значително по-високи и могат да надвишат 10 (42). Аналогични фактори, като разстояние между животните и възможности за контакт влияят и върху разпространението на инфекцията между стадата, но по-неефективно, което води до по-ниски стойности за R_0 , от стадо до стадо в началото при появата на огнището (стойности от $R_0 = 2$ са докладвани за огнища в Обединеното кралство и Перу [12, 18, 23]). Въпреки това са докладвани и по-високи стойности, когато условията благоприятстват изключително бързото разпространение, например аерозолното (18).

В рамките на стадата, 80% обхват на ваксинацията обикновено се цитира като цел на програмата за контрол на шапа (4), като знаменателят на покритието в този случай е общият брой на възприемчивите животни в стадата (т.е. тези, които подлежат и не подлежат на ваксинация). Обхватът с ваксинация от 80% трябва да намали R_v (R_v е коефициентът на възпроизводство на вируса при ваксинираните животни) от 5, до по-малко от 1 и по този начин да спре разпространението на шапа сред ваксинираните животни, затова винаги трябва да е много ясно за какво се отнасят тези 80%.

Въпреки че в много случаи ваксинацията не блокира напълно предаването на вируса и ако се приеме, че вероятността за достигането на тази цел е 75%, тогава при 80% обхват на ваксинацията, огнището ще бъде поставено под контрол само когато R_0 вече е по-малко от 2,5 (Таблица 12).

Таблица 12: Съотношение между нивото на предаване на вируса в популацията и обхвата на ваксинацията, необходим за да спре неговото разпространение ($f \times h = 1 - 1/R_0$)

Начално ниво на разпространение (R_0)	Дялът на животните, които трябва да бъдат ваксинирани (f), при 100% ефективност на ваксинацията (h)	Дялът на животните, които трябва да бъдат ваксинирани (f), при 75% ефективност на ваксинацията (h)
2.5	60%	80%
4	75%	100%
5	80%	Невъзможно
6.7	85%	Невъзможно
10	90%	Невъзможно
20	95%	Невъзможно

* Невъзможно да елиминира инфекцията дори при ваксиниране на цялата популация (100%)

На ниво стада трябва да се ваксинират голям процент от стадата (> 80%), но ще бъде трудно да се постигне 100% ефективност. Въпреки това, контактът между стадата (и от тук и R_0) може да бъде значително намален, чрез прилагане на ефективни мерки за биосигурност, което ще намали необходимостта от постигане на тези недостижими нива на защита чрез ваксинацията. Обратно, ефективната защита с ваксини често възпрепятства предаването на вируса, дори ако нивото на биосигурност не е оптимална.

Трябва да се отбележи, че ако се наблюдава обхвата на ваксинацията на регионално равнище, в рамките на даден регион ще има зони с високо покритие и области с ниско покритие, вероятно тези, които са най-трудно достъпни или където фермерите са най-малко мотивирани да предоставят своите животни за ваксинация. По този начин, на обобщено регионално ниво, може да изглежда, че покритието е достатъчно, за да се контролира предаването, но островите с ниско покритие в рамките на региона могат да създадат резервоари, където да продължи циркулацията на вируса.

Освен това е важно да се има предвид, че не всички ваксинирани животни ще достигнат защитно ниво на имунитета. Като пример, ако обхвата на ваксинацията е $f = 0,9$ и дялът на животните със защитно ниво на специфични антитела е $h = 0,95$, тогава общият дял на животните със защитно ниво на специфични антитела ще бъде $p = 0,90 \times 0,95 = 0,855$ или **85,5%**. Освен това имунният отговор може да се дължи по-скоро на инфекция, отколкото на ваксинация или може да отразява по-ранни кръгове на ваксинация от тези, които се измерват. При млади животни имунитетът може също да отразява пасивния имунитет, придобит от майчината коластра.

В предходния раздел беше направена препратка към обхвата на ваксинацията и бяха представени някои от методите, използвани за оценката му. Независимо от метода, надеждната оценка на обхвата на ваксината изисква да е известна целевата популация, която ще бъде ваксинирана. Тази информация, освен че е съществена при оценката на дела от популацията, обхванат от програмата за ваксинация, е от съществено значение и на етапа на планиране на нуждите от ваксини.

Оценката относно обхвата на ваксинацията, предполага събиране на данни и оценка на дейностите, за да се даде възможност целите, заложи в плана за действие, да бъдат сравнени с реално постигнатото. Съответно, при провеждане на мониторинга върху имунизационната програма, трябва да се използват инструменти за отчет, от които данните могат лесно да бъдат извлечени по всяко време на провеждането на кампанията за ваксинация.

Предложеният подход за наблюдение и оценка на обхвата на ваксинацията се основава на следните допускания:

- разпределението на ваксината до ваксинаторите се извършва чрез локален разпределителен център (най-ниската верига по разпределението на ваксината от централно до периферно ниво);
- няма индивидуална идентификация на животните;
- ваксинацията е част от структурирана имунизационна кампания (предполага се, че тя се провежда на всеки шест месеца);
- графикът за ваксинация предвижда всяка ферма/домакинство да бъде посетена два пъти във всяка кампания (първото посещение е за ваксиниране на всички налични животни, отговарящи на условията, а второто за инжектиране на бустер дозата на младите животни като проследяване на първата им доза). Възможно е да има изключения от това правило, които ще бъдат записани в картата за ваксинация.

5.7.2. Ефективност и ефикасност на ваксините

Ефикасността на ваксината е мярка за това, колко добре ваксината защитава животното срещу даден нежелан резултат, например заболяване, репликация на вируса, отделяне или предаване на вируса, когато се тества при контролирани условия, така че обстоятелствата на ваксинацията и заразяването да са добре характеризирани. Пример е тестът за ефикасност при говеда, описан в Наръчника за сухоземни животни, при който след предписан режим на ваксинация и контролно заразяване, измереният резултат



е генерализиране на вирусната инфекция след инокулация на вируса в езика, което води до появата на везикули по краката (44). Този показател дава представа за качеството на ваксината.

Ефикасността на ваксината, в допълнение към метода, описан по-горе, може също да бъде измерена при контролирани полеви условия, чрез рандомизирани контролирани проучвания (RCT). В такъв случай тя се изразява чрез нивото на снижение на заболяването/инфекцията при ваксинираната популация в сравнение с контролната неваксинирана популация.

Ефикасността на ваксината понякога се бърка с нейната ефективност, която е индикатор за това колко добре животните са защитени на терен чрез програма за ваксинация (26).

Ефективността на ваксината е нивото на защита срещу даден нежелан резултат, обикновено заболяване или заразяване, което се измерва чрез сравнение между случаите при ваксинирани и неваксинирани животни в рамките на една и съща популация. То зависи не само от качество на ваксината, но и от външни фактори, като въздействие на съхранението и разпространението на ваксината, степента на хомоложност между ваксиналния и теренния щам, схемата на ваксинацията и косвено, обхвата на ваксинацията.

Една от причините, поради които ефикасността и ефективността на ваксината понякога се използват неправилно взаимозаменяемо, може да бъде, защото и двете могат да бъдат оценени с помощта на едно и също уравнение:

$$VE = (R_U - R_V) / R_U \quad (1)$$

където R_U е рискът или степента на заболяемост при неваксинираната популация, а R_V е честотата при ваксинираните.

Въпреки че двете понятия са свързани, те трябва да се разглеждат като различни, тъй като се различават в подхода, използван за тяхната оценка:

- ефикасността на ваксината се оценява чрез RCT; докато

- ефективността на ваксината се оценява чрез проучвания на място или понякога в полеви опити при нормални контролирани условия.

За да се избегне объркване между ефикасност и ефективност; акронимът VE се отнася (в този документ) за ефективността на ваксината, като уравнение 1 се преформулира като:

$$VE = 1 - (R_V/R_U) \quad (2)$$

и обикновено се изразява като процент.

На етапи 2 и 3 от програмата за борба с шапа (PCP-FMD), се прилагат мерки за контрол, докато болестта/инфекцията все още е налице. Възможно е на етап 2 ваксинацията да е единствената прилагана мярка (една държава може да реши, че не ѝ е по силите да се освободи от шапа и да пожелае да балансира икономическата тежест от болестта с цената на ваксинацията). Преходът към етап 3 означава, че е взето решение за постигане на статут на страна, свободна от болестта и ще бъде възприета по-агресивна политика с ясната цел за окончателното ѝ изкореняване.

Когато страните са на етап 2 или 3 от PCP-FMD (когато все още се очаква да се появят огнища на шап), ефективността на ваксината трябва да се измери, за да се гарантира, че при полеви условия тя ще осигури очакваната защита.

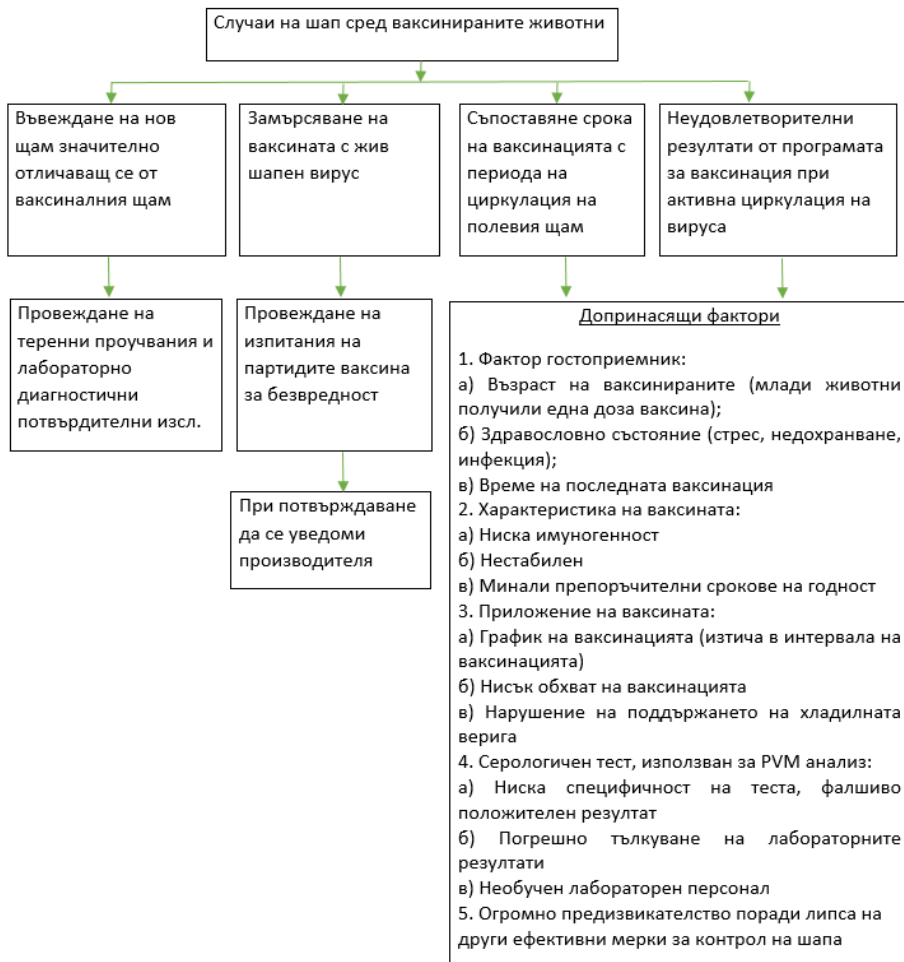


5.7.3. Изследване огнищата на шап при ваксинирани животни

Задълбоченото изследване на огнищата на шап, които се появяват сред ваксинираните животни, които се очаква да са защитени, е важен аспект от пост-ваксиналния мониторинг. Констатациите трябва да се разглеждат в контекста на една по-широка програма за мониторинг, за да се изясни дали пробойните се дължат на някакви специфични, локални причини или са част от по-мощен проблем в програмата за ваксинация. Препоръчително е при обследването на случаите да се използва систематичен подход, за да се проверят всички етапи, на които могат да възникнат проблеми, касаещи качеството и пригодността на ваксината, нейното съхранение, доставка, приложение, обхвата на ваксинация, индуцирания имунитет, особеностите на провокационния тест (контролното заразяване), което може да е било с по-голямо количество вирус, който да е оказал силен инфекциозен натиск, дълъг интервал след ваксинацията или промяна в антигенния фенотип на вируса.

Времето на поява на огнищата от шап във връзка с ваксинацията е ключов фактор, тъй като имунитетът отнема време, за да се развие и след това да започне да намалява. Фигура 7 показва дърво на решенията за този аспект на обследването. Конкретен методологичен подход, използващ данни, събрани в хода на разследванията на огнища, е даден в приложение 4, въз основа на опита от ретроспективни разследвания на огнища в Турция (27).

Фигура 2: Провеждане на епизоотологично проучване на случаи на шап сред ваксинирани животни



5.7.4. Ефективност на програма за контрол на шапа

Както вече беше споменато, в зависимост от статута на страната или зоната, програмата за контрол на шапа (която включва ваксинация), трябва да бъде разработена и приложена с ясна цел от самото начало. Същите категории, използвани в главата за определяне на целевите стойности за оценка на имунитета, сега се използват за определяне на стратегическите цели на програма за контрол. Те са обобщени в таблица VII.

6. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ ЗА ПЛАНИРАНЕ НА ТЕРЕННИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ НА ПОПУЛАЦИОННИЯ ИМУНИТЕТ

В този раздел е представена обща информация за статистическите методи, използвани при планирането на теренните изследвания на популационния имунитет. Приложени са примери за по-лесното им разбиране.

При проектиране на проучването има два важни аспекта, които трябва да се вземат предвид: (i) процесът на подбор, за да се реши кои членове на целевата съвкупност да бъдат включени в извадката; и (ii) процесът на оценка (оценъчните показатели) за изчисляване на статистиката на извадката (2, 10, 25). Двата аспекта са тясно свързани и начинът, по който се избират индивидите, ще повлияе на начина, по който се изчисляват оценъчните показатели.

В тази връзка е необходимо да се въведат понятията „параметър“ (характеристика, отнасяща се до цялата съвкупност) и „оценка“ (на този параметър), която се явява като цел на подборното обследване и се постига чрез вземане на проби.

При оценката на който и да е параметър от съвкупността неизбежно се явява (наред с други неща) и случайна грешка, която не може да бъде напълно елиминирана и най-доброто, което може да се направи, е тя да бъде контролирана с помощта на подходящи процедури за подбор и определяне големината на извадката.

Това е причината оценките да се представят с доверителен интервал (стандартна грешка на средната стойност), който дава индикация за диапазона от стойности (при определено ниво на вероятност), в рамките на който вероятно се намира истинската (и неизвестна) стойност на параметъра. Колкото по-малка е стандартната грешка, толкова по-точна е оценката на основния параметър.

Диапазона на стандартната грешка се влияе главно от: (i) размера на извадката; и (ii) схемата на изследването.

Допълнителен аспект, който трябва да се има предвид при разработването на извадковото проучване, е началната хипотеза. Ако например трябва да се направи оценка на дела на животните от популацията, които са NSP-позитивни, е необходимо (за изчисляване на размера на извадката) да се направи първоначална преценка каква е вероятността да бъде тази пропорция. Този момент понякога се смята за спорен от онези, които не са запознати с проектирането на такива проучвания и чест коментар е: „Защо ме питат да отгатна дали това е, което искам да знам?“

Въпросът е, че от статистическа гледна точка тази предварителна хипотеза е необходима за оценка на размера на извадката.

При определяне на необходимия брой проби трябва да се вземат предвид:

- Доверителния интервал (гаранционната вероятност за съответствие на заключението);
- Предполаганото разпространение на болестта в популацията;
- Чувствителността и специфичността на метода;
- Съотношението между размера на извадката и големината на изследваната популация;
- Отклонението на различните варианти спрямо средната стойност за популацията (стандартната грешка);
- Теоремата за основните ограничения от теорията за пробовземането, според която при голям брой проби



разпределението на стойностите в представителната извадка ще е близко до това на популацията, от която е взета.

Да обобщим, „съставките“, необходими за проектиране на едно такова подборно изследване и изчисляване на размера на извадката, ще бъдат:

Очаквано разпространение на болестта – какво ниво (%) на разпространение на болестта (*prevalence*) очаквате да присъства в този момент или период от време? Това отново може да е объркващо, тъй като целта е да се измери това разпространение. Въпреки това, може да се използват вече съществуващи проучвания или източници на информация, за да се определи тази оценка. Трябва да се има предвид, че размерът на извадката се увеличава, когато очакваното разпространение нараства от 1 до 50% и след това отново намалява с очаквано разпространение от 51 до 100%.

Допустима граница на грешката при оценка на разпространението на болестта (*prevalence*) – при повишаване на допустимия предел на грешката (10% вместо 5%), точността на изследването се понижава и следователно се намалява необходимият размер на извадката. По принцип при разпространение на болестта между 10 и 90%, се прилага допустим предел на грешка от 5% и съответно при разпространение на болестта между 1 и 10% допустимият предел на грешка е от 2%.

Нива на достоверност – При изследване на репрезентативна извадка, не може със 100% сигурност да се твърди, че дадена популация е свободна от заболяване. С увеличаване броя на пробите, се увеличава и достоверността на получените резултати докато се достигне до желаното ниво на гаранционна вероятност. Обикновено за проучвания, насочени към оценка на разпространението, се взема ниво на достоверност от 95%, докато за доказване на липса на заболяване често се взема високо ниво на доверие (99%).

Нивото на достоверност може да се изчисли с 95% сигурност с отклонение от средната стойност в двете посоки +/- 1.96, а при 99% сигурност - с отклонение от средната стойност +/- 2.58.

Това означава, че при ниво на доверие от 95% или 99%, съответно 95 или 99 на всеки 100 проби, взети от прицелната популация, ще съдържат истинските стойности за тази популация.

Пример: Ако предположим, че избраният брой проби ни дава 95% вероятност за откриване на антитела при 10 % серопозитивни животни от стадо, това означава, че средно 5 от 100 стада с разпространение 10% няма да бъдат открити като положителни при изследването. Обаче много по-малко стада с над 10% разпространение ще останат неразкрити при това изследване, докато степента на грешката за стада с разпространение на заболяването под 10% би била над 5 на сто.

Епизоотологична единица и единица за пробовземане - Епизоотологичната единица са група животни с определена епидемиологична връзка, които споделят приблизително еднаква вероятност от заразяване с вируса на шапа. Тя е тази, която е обект на наблюдението, а единицата за пробовземане, от която ще се вземат пробите.

Например, ако свинефермата е епизоотологичната единица с наблюдаваните животни, от които се събира информация, то всяко хале е единицата за пробовземане. Първоначално се изготвя рамка за пробовземането, в която се включват всички епизоотологични единици, от които ще се вземат проби, след което се определят извадките, по такъв начин, че да бъдат представителни за цялата епизоотологична единица.

Влияние на чувствителността на теста за откриване на заболяването върху големината на извадката - Големината на извадката трябва да се коригира спрямо чувствителността на теста. Необходими са допълнителен брой проби, защото някои от положително реагиралите е възможно да са в действителност отрицателни. Например, ако теста е с чувствителност 80%, големината на извадката трябва да се коригира с коефициент $100/80 = 1.25$, така извадката примерно от 40 трябва да стане $40 \times 1.25 = 50$. Ако теста е с чувствителност 90% големината на пробата трябва да се коригира с коефициент $100/90 = 1.11$

6.1. Оценка на дела на животните от популацията, притежаващи имунитет срещу вируса на шапа чрез обикновена средна проба

Цел: Да се оцени делът на животните, ваксинирани за първи път, които ще развият защитно ниво на антитела, в резултат от ваксинацията.

Целева популация: Животните на възраст от 6 до 12 месеца, които ще бъдат инжектирани с ваксина срещу шап и които преди това не са били изложени на естествена инфекция.

Изучавана група: Отделни животни.

Измерим отговор: титри на антитела срещу SP на видовете вируси, съдържащи се във ваксината и наличието на антитела срещу NSP. Ако е известен прага на защита, тогава животните с титри на антитела срещу SP над този праг се считат за „достатъчно защитени“, а тези с титри по-ниски се считат за „недостатъчно защитени“.

Време на вземане на пробите: Проби от тази подкатегория трябва да бъдат взети в момента на ваксинацията (t_0) и след 28, 56 и 168 дни (съответно t_1 , t_2 , t_3). Това позволява да се оцени имунния отговор, предизвикан от ваксината и продължителността на кампанията, както и дава възможност за отхвърляне на евентуално предишно заразяване с вируса на шапа или циркулацията на вируса по време на полевите изследвания.

Методологичен подход и последици: Тъй като целта е да се оцени имунният отговор, дължащ се на ваксинацията, е наложително диференцирането на антителата, дължащи се на ваксината и антитела, дължащи се на предишно заразяване. Ако приемем, че използваната ваксина не индуцира антитела срещу NSP, изпитването на серумни проби за такива антитела във всеки интервал, позволява да се направи разлика между антитела, дължащи се на ваксинация и антитела, дължащи се на инфекция (т. нар. DIVA – диференциране на инфектираните от ваксинираните животни). Когато циркулацията на вируса в района е или много ниска или нулева, тестовете за антитела срещу NSP могат да се използват за демонстриране чистотата на ваксината по отношение на NSP. Взemanето на проби от животни през различни интервали предполага, че планът за пробовземането

трябва да бъде изготвен предварително и тези животни трябва да бъдат индивидуално идентифицирани (т.е. маркирани с ушни марки).

Структурна схема (дизайн) на изследването: Различните методи за вземане на средна проба (SRS) са лесно достъпни в много основни статистически учебници и няма да бъдат разгледани тук. Но се изисква наличието на списък на животните в целевата популация. След това от него може да се избере на случаен принцип необходимия брой животни. Този списък понякога не е наличен предварително, което може да затрудни стриктното спазване на процедурата за SRS.

Практически подход за преодоляване на този проблем е да се направи предварителен подбор от 10 до 15 епизоотологични единици преди началото на кампанията за ваксинация (броят от 10-15 е само ориентируващ, но като цяло броят на епизоотологичните единици трябва да е достатъчен, за да се получи брой животни, отговарящи на условията, най-малко два пъти по-голям от прогнозния размер на извадката).

Изборът на епизоотологичните единици трябва да се основава на познания от минали епизоотии на шап (за да се гарантира, че е по-малко вероятно някои от животните, от които са взети проби, да са били изложени на полеви вирус). След като бъдат избрани епизоотологичните единици, те трябва да бъдат посетени, за да се проверят всички критерии за допустимост, на които трябва да отговарят животните в тях, които ще бъдат включени в извадката. Ако животните могат да бъдат маркирани индивидуално по време на посещението, може да се създаде списък, от който животните могат впоследствие да бъдат избрани по процедурата за вземане на средна проба (SRS). Може също да се приложи подход на систематично произволно вземане на проби. Този подход, от практическа гледна точка, може да се счита за заместител на SRS дизайна.

Размер на извадката: Преценката за размера на извадката включва, както нестатистически, така и статистически съображения. Нестатистическите съображения включват наличието на рамки за пробовземане, ресурси, работна сила и съоръжения. Статистическите

съображения са представени по-долу.

За да се оцени размера на извадката при SRS дизайн, уравнението, което трябва да се използва е:

$$n = 1,96^2 p(1-p) / e^2 \quad (\text{уравнение 1})$$

Както е посочено в уводната част на този раздел, преценката на големината на извадката изисква преценка за това какъв е очаквания процент животни от популацията с откриваемо ниво на антитела срещу вируса на шапа, каква е допустимата грешка и какво е нивото на доверие, което изследователят желае да има за да изготви заключение.

Съгласно критериите, посочени в раздел 3.4: (i) очаквания дял е 85%, посочен като p в уравнение 1); (ii) абсолютната грешка (допустимата грешка или желаната прецизност, както е посочено в уравнение 1 е 10% (което означава, че ако очаквания дял наистина е 85%, тогава получената оценка ще бъде между 75% и 95%; и (iii) накрая избраното ниво на доверие е 95% (което означава, че следователят иска да бъде 95% уверен че оценката на дела (ако е 85%) всъщност ще бъде между 75% и 95%. Стойността 1,96 е нормалното стандартно отклонение за 95% ниво на доверие (ако изследователят желае да има 99% или 90% ниво на доверие, стойността 1,96 трябва да бъде заменена с 2,58 или 1,64, съответно).

Уравнение 1 се използва за оценка на размера на извадката n за безкрайна популация, но ако броя на животните от общата популация, отговарящи на условията за вземането на проби, е известен, тогава размерът на извадката може да бъде коригиран за ограничена популация, като се прилага следното уравнение:

$$n_i = 1 / (1/n + 1/N) \quad (\text{уравнение 2}),$$

където n е размерът на извадката, оценена за безкрайно голяма популация, а N е общия брой животни, отговарящи на условията за вземане на проби.

Прилагане на уравнение 1 за целта, посочена в раздел 3.5.1 ще даде:

$$n = 1,96^2 \times 0,85 \times (1 - 0,85) / 0,1^2 = 49$$

Размерът на извадката е изчислен без корекция за ограничена популация. Потребителят може да изпробва различни входящи стойности според различните хипотези за вероятното разпространение на болестта.

Приблизително процентно разпространение и доверителен интервал: След като резултатите от лабораторните изследвания са готови, могат да бъдат оценени процентното разпространение и 95% доверителен интервал (CI). При схема на пробовземане чрез средна проба (SRS), дялът на животните с титри на антитела срещу вируса на шапа, равни на или над определено ниво, може да бъде определен във всеки един от разглежданите интервали и се изчислява по уравнение 3:

$$p = a/n \quad (\text{уравнение 3})$$

където a е броя на животните с титри на антитела, равни или над установения праг, а n е броя на животни в извадката (размера на извадката). 95% доверителен интервал за изчисленото разпространение е:

$$CI \ 95\% = p \pm 1,96 \times SE \quad (\text{уравнение 4})$$

Стандартната грешка (SE) се изчислява от:

$$SE(p) = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n-1}} \quad (\text{уравнение 5})$$

Чрез замяна на SE в уравнение 4 с уравнение 5, 95% CI ще бъде:

$$95\% \ CI = p \pm 1,96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n-1}} \quad (\text{уравнение 6})$$

Ако приемем, че 43 от 49 ваксинирани животни показват

откриваемо ниво на антитела на 30-ия ден след ваксинацията, ($a = 43$ и $n = 49$), тогава: $p = 43/49 = 0,877$ (87,7%) :

$$SE(p) = \sqrt{\frac{0,877(1-0,877)}{49-1}}$$

и 95% доверителен интервал за оценката пропорцията ще е: 95% CI = $0,877 \pm 1,96 \times 0,047$ по този начин 95% CI за очакваната пропорция ще бъде $0,877 \pm 0,092$, което означава, че истинската стойност е между 0,9703 (или 97,03%) и 0,7448 (или 74,48%).

В горното уравнение (6) не се прави корекция за ограничена популация. Ако трябва данните за общия брой животни, отговарящи на условията за вземане на проби да са налични, тогава 95% доверителен интервал би бил:

$$95\% \text{ CI} = p \pm 1,96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)(N-n)}{n-1} \frac{N-n}{N}} \quad (\text{уравнение 7})$$

където N е общият брой на ваксинираните животни, отговарящи на условията за вземане на проби. Величината $\frac{(N-n)}{N}$ е коефициент за корекция за ограничена популация.

Коментари: Според предполагаемите констатации, че 43 от 49 животни (87,7%) са развили измерим отговор след ваксинацията, изследователят може да заключи че: (i) първоначалната хипотеза за очаквани 85% от животните да развият измерим отговор е различен от действително установените 87,7% (въпреки че при 95% доверителен интервал $87,7\% \pm 9,2\%$ ще включва предполагаемото разпространение от 85%); (ii) стойността от 87,7% представлява най-добрата налична точкова оценка (първоначалната хипотеза е необходима за оценка на размера на извадката, но след като данните са налични, оценката трябва да се основава на констатациите). Във всеки случай може да се заключи, че първоначалната хипотеза не е много далеч от действителните констатации.

Потребителят може да отбележи, че уравнение 1 за оценка размера на извадката е само пренареждане на уравнение 5. Всъщност допустимата грешка е стандартната грешка на оценката.

Забележки: Тази методика може да се използва и когато подборът се извършва в съответствие със систематична процедура за произволна извадка. Въпреки че не е строго правилно и въведеното отклонение е незначително за повечето практически цели.

6.2. Оценка на дела на животните от популацията, притежаващи имунитет срещу вируса на шапа, чрез двуетапно произволно вземане на проби

Цел: Да се оцени дела на животните с „откриваемо ниво на антитела“ в популацията.

Прицелна популация: Общият брой животни, присъстващи в района или зоната, където се изпълнява програмата за ваксинация и за които ще важат заключенията от проучването. Прицелната популация трябва да бъде стратифицирана, ако е хетерогенна, с потенциал за значително различни субпопулации с различни нива на имунен отговор на ваксинацията, поради състава на вида или променливите фактори в режима на ваксинация (разл. стратегия за ваксинация, екипи за ваксинация, хладилни вериги, партии ваксини и др.). Колкото по-голяма е необходимата сигурност, толкова по-задълбочено трябва да се извърши стратификацията. На практика е обичайно всеки вид да се разглежда като различна целева популация и обикновено провинции или области могат да се използват като единица популация, а не цяла страна или зона, за да се тестват регионалните различия в ефективността на ваксинацията. След това броя на пробите, които трябва да се вземат, се прилагат за всяка субпопулация.

Накрая, трябва също да се има предвид, че допустимите животни за вземане на проби са всички, които са включени в прицелната популация, която включва както ваксинирани, така и неваксинирани животни (животни, които не са отговаряли на условията за ваксиниране по време на кампанията за ваксинация,

животни, пропуснали ваксинация или нововъведени животни).

Исходна популация: Отделни животни, отговарящи на условията за вземане на проби, присъстващи в първичните единици за пробовземане (вижте дизайна на изследването по-долу), предварително избрани за вземане на проби.

Единица, представляваща интерес: Отделни животни.

Резултат от интерес: Ниво на откриваеми антитела срещу вируса на шапа.

Измерим отговор: титър на антитела срещу структурните протеини (SP) на видовете вируси, съдържащи се във ваксината. Ако е известен прага на защита, тогава животните с титри на антитела над този праг могат да се считат за „достатъчно защитени“, а тези животни с титри по-ниски могат да се считат за „недостатъчно защитени“.

Време за вземане на проби: Когато програмата за ваксинация се прилага редовно, имунитетът може да бъде оценен или в момента, когато се очаква най-високото или най-ниското ниво. Това е или 30 дни след ваксинацията, или съответно в деня, в който животните ще бъдат реваксинирани. Ако ваксинацията не се прилага редовно, вземането на проби в деня на ваксинацията може да не е от значение.

Методологичен подход и последици: Тъй като целта е да се оцени общото ниво на имунитета, е полезно да се прави разлика между антитела, дължащи се на ваксината, и антитела, които може да се дължат на предишно заразяване с полеви вирус. Ако приемем, че използваната ваксина не индуцира откриваеми антитела срещу неструктурните протеини на вируса на шапа (NSP), изследването на серумни проби за NSP антитела ще разграничи антитела, дължащи се на ваксинацията от антителата, дължащи се на инфекция (**NB!** Делът на животните с NSP антитела, индуцирани чрез ваксинация, ще бъде нисък в стадата, които са получили само една или две дози ваксина, дори и с непречистени ваксини).

Когато честотата на циркулация на вируса в зоната е много ниска или нулева, тестове за NSP антитела може да не са необходими.

Когато програмата за ваксинация се прилага редовно, има пряка връзка между нивото на имунитета и възрастта. Затова се препоръчва

стратификация по възраст. Стратификацията по възраст ще улесни тълкуването на резултатите от теста. Всяка от тези различни възрастови групи трябва да се счита за различна субпопулация.

Ако оценката на нивото на имунитет е ограничена само до една конкретна възрастова категория, се предлага да се вземе проба от възрастовата категория от една до две години, която вероятно ще включва животни, които вече са ваксинирани многократно и може да даде известна представа за нивата на имунитета при по-младите възрастови класове (вероятно да са по-ниски) и при по-стари възрастови класове (вероятно да са по-високи).

Ако броят на допустимите животни за епизоотологична единица не е известен предварително, тогава данните трябва да се събират по време на вземането на проби.

Дизайн на извадката: Оценката на нивото на имунитета на общата популация или на специфични подгрупи обикновено изисква комплексно проучване. В този конкретен случай е възможно да се използва схемата на двуетапно клъстерно вземане на проби, като първият етап ще включва подбор на епизоотологичните единици (първични единици за вземане на проби – PSU), а вторият етап – отделните животни (вторични единици за вземане на проби – SSUs) в рамките на всяка една епизоотологична единица. Процедурата би била първо да изберете определен брой PSU и след това, от всяка една от тях, да се изберат определен брой животни (SSU). Очевидно тази процедура ограничава избора на SSU само до онези PSU, избрани в първия етап. PSU могат да бъдат избрани чрез методика за произволен избор. Въпреки това, PSU обикновено се избират на принципа на случайността, пропорционално на размера на популацията (PPS) или чрез SRS. Когато е налице списък на всички епизоотологични единици и приблизителния брой животни на епизоотологична единица в зоната, където трябва да се проведе PVM, се препоръчва вземане на PPS проби. Този процес за подбор гарантира, че извадката е „самопретеглена“ и не са необходими допълнителни корекции при оценката на дела на положителните (p) и нейния доверителен интервал (процедурите за избор на PSU с помощта на вероятност, пропорционална на размера, не са

разгледани тук, но могат да бъдат намерени в много учебници по статистика). Доста важно е допълнително да се има предвид, че ако PSU бъдат избрани чрез PPS процедура, размерът на референтната съвкупност може да бъде различен за всяка една от възрастовите групи, разглеждани за вземане на извадка. Когато е наличен само списък на всички епизоотологични единици, PSU се избират от SRS. SSU могат да бъдат избрани или чрез систематично произволно вземане на проби или чрез SRS, когато е възможно.

Размер на извадката: За да се изчисли подходящия размер на извадката, е необходим баланс между прецизност и цена (19). Размерът на извадката зависи от желаната прецизност на оценката (или допустимата грешка или стандартната грешка), очакваното разпространение и необходимото ниво на доверие. При този специфичен тип проучване, където броят на PSU обикновено е голям, размерът на популацията не е от значение.

Двата етапа на вземане на проби означават, че има два източника на променливост: (i) променливостта между PSU (кълстери); и (ii) променливостта в рамките на PSU.

За да се получи по-добро разбиране на последиците от прилагането на такива сложни проекти трябва да бъдат въведени две допълнителни концепции, а именно ефектът на проектиране и коефициентът на вътрекълстерна корелация (5, 19).

Ефектът от проектирането на схемата за пробовземане (D) е съотношението между променливостта, наблюдавана при сложен дизайн, и променливостта, която би се очаквала, ако дизайнът се основаваше на обикновената средна проба - SRS (с даден размер на извадката n). Ефектът на проектиране предоставя индикация за това, колко проби биха били необходими при сложен дизайн на изследване (като двуетапно кълстерно пробовземане в сравнение със SRS), за да се получи същото ниво на точност (т.е. същата стандартна грешка). Ако например $D = 2$, тогава за сложен дизайн на проучването ще са нужни $2n$ проби, за да имат същото ниво на прецизност, което би се очаквало, ако е със SRS схема. Това се изразява като:

$$D = S^2_{\text{Cluster}} / S^2_{\text{srs}} \quad (\text{уравнение 8})$$

където S^2 е дисперсията при двата типа схеми на изследването, както е посочено в уравнение 8.

Ефектът от избраната схема може да бъде точно изчислен само в края на изследването. Въпреки това, той може да бъде оценен въз основа на средния брой проби, взети от всяка епизоотологична единица и стойността на вълтрекълъстерния коефициент на корелация (ρ), а именно:

$$D = 1 + (m - 1) \rho \quad (\text{уравнение 9})$$

където m е средният брой проби, събрани във всяка епизоотологична единица.

Коефициентът на вълтрекълъстерна корелация (ρ) определя количествено степента, до която единиците в клъстерите на популацията са сходни една с друга. Той отчита свързаността на клъстерираните данни чрез сравняване на дисперсията между клъстерите и дисперсията в клъстерите. Това се изразява като:

$$\rho = S^2_b / (S^2_b + S^2_w) \quad (\text{уравнение 10})$$

където S^2_b е дисперсията между клъстерите, а S^2_w е дисперсията вътре в самите клъстери. Имайте предвид, че ρ може да бъде оценено чрез пренареждане на уравнение 9:

$$\rho = (D - 1) / (m - 1) \quad (\text{уравнение 11})$$

NB! Параметърът ρ ще повлияе на размера на пробата във всеки клъстер и като цяло със стойности на ρ по-близо до 1, размерът на пробата в клъстерите се намалява (тъй като е достатъчно да се тестват само няколко животни, за да се получи желаната информация), но това ще доведе до увеличаване броя на PSU (клъстерите), които трябва да бъдат включени в извадката поради увеличената обща променливост. Стойностите на ρ , близки до 1, са редки, а стойностите $\leq 0,2$, $> 0,2$ и $\leq 0,4$ както и $> 0,4$ обикновено се считат за показателни за ниска, средна и висока степен на хомогенност.

Налице са няколко специфични софтуерни програми за изчисляване размера на извадката и за анализиране на резултатите от двуетапно клъстерно пробовземане, но е необходимо определено ниво на опит. Когато не е възможно да се използва специфична софтуерна програма, следната процедура за оценка на приблизителния размер на извадката може да се използва за тези сложни изследвания.

По долу с илюстративна цел е представена оценка на размера на извадката в процедура от пет стъпки:

Стъпка 1 – дефинирайте следните елементи:

- желаното ниво на достоверност (обикновено 95%);
- очакваното разпространение на събитието (**p**);
- желаната прецизност (допустима грешка или стандартна грешка) на оценката (**e**);
- броят на пробите, които трябва да бъдат събрани във всяка избрана епизоотологична единица (**m**).

Стъпка 2 – изчислете общия брой необходими животни (SSUs), като се използва схемата за вземане на средна проба SRS, използвайки уравнение 1:

$$n = 1.96 p (1 - p)/e^2 \quad (\text{уравнение 1})$$

Стъпка 3 – изчислете ефекта на дизайна, като използвате уравнение 9 (и като приемете, че от **m** индивида във всяка епизоотологична единица ще бъдат взети проби):

$$D = 1 + (m-1) \rho$$

Стойностите на ρ могат да бъдат налични от предишни проучвания или изчислени в пилотно проучване. Ако това не е осъществимо, могат да се използват стойности на ρ от други заболявания с подобно епидемиологично поведение. И накрая, ако нито една от тези алтернативи не е възможна, тогава ρ трябва да се отгатне. Както вече беше посочено, стойностите $\leq 0,2$, $> 0,2$ и $\leq 0,4$, както и $> 0,4$ са показателни съответно за ниска, средна и висока

степен на хомогенност.

Стъпка 4 – коригирайте размера на извадката за ефектите от групирането:

$$n_{\text{adjusted}} = n \times D$$

където n_{adjusted} е общият брой на SSU, необходими след отчитане на приликите между групирани субекти.

Стъпка 5 – определете броя на клъстерите, които трябва да бъдат взети за проби (C)

$$C = n_{\text{adjusted}}/m$$

И накрая, се получава броя на SSU, необходими за оценка на разпространението на събитието чрез двуетапен метод за вземане на проби, като се има предвид желаното ниво на доверие, степен на прецизност и брой проби за SSU.

Оценка на разпространението и доверителния интервал:
При оценка на разпространението трябва да се вземе предвид процедурата, използвана за избор на клъстери. Ако клъстерите са избрани с PPS и е избран фиксиран брой субекти във всяка епизоотологична единица, тогава всяко животно от популацията има еднаква вероятност да бъде избрано. По същия начин, ако клъстерите са избрани чрез SRS и се подбере постоянен дял от животните, присъстващи във всяка епизоотологична единица, тогава всяко животно в популацията също би имало приблизително еднакъв шанс да бъде избрано.

Ако клъстерите са избрани чрез SRS и се подбере фиксиран брой субекти във всяка епизоотологична единица, тогава животните нямат еднакъв шанс да бъдат избрани. Тези различни шансове да бъдат избрани трябва да се вземат предвид, за да се получи подходящата точкова оценка.

6.3. Мониторинг на поствакциналния имунен отговор на популационно ниво

Цел: Да се оцени делът на „неадекватно ваксинираните“ епизоотологични единици (NAVEU).

Целева популация: Общият брой епизоотологични единици, присъстващи в района или зоната, където се прилага програмата за ваксинация.

Проучвана група: Епизоотологичната единица (ферми, села, кошари, вани за потапяне на овцете).

Време за вземане на проби: Когато програма за ваксинация се прилага редовно, имунитетът може да бъде оценен в момента, в който се очаква най-високото или най-ниското ниво. Това обикновено е съответно 28 дни след ваксинацията или деня, в който животните ще бъдат реваксинирани. Времето за вземане на проби трябва да се вземе предвид, за да се оцени ефективността на програмата за ваксинация, въз основа на праговото ниво на антителата, което се предполага, че е равно на или по-високо от този праг.

Методологически подход и последици: За да се оцени съотношението на NAVEU, се избира подходящ брой епизоотологични единици (първи етап), след което статусът на епизоотологичните единици се определя въз основа на резултатите, получени от събраните проби във всяка от избраните епизоотологични единици (втори етап). Въз основа на това се изчислява делът на NAVEU. Стратификацията по възраст е препоръчителна.

Тъй като целта е да се оцени нивото на поствакциналния имунитет на епизоотологичните единици, е необходимо да се направи разграничаване между поствакциналните и постинфекциозните антитела, дължащи се на предишно заразяване с полеви вирус. Ако приемем, че използваната ваксина не индуцира откриваеми антитела срещу неструктурните протеини на вируса на шапа (NSP), изследването на серумни проби за наличието на такива антитела позволява да се разграничат ваксинираните от инфектираните

животни (т.нар.DIVA). Когато честотата на циркулацията на вируса в зоната е или много ниска, или нулева, може да не е необходимо изследване за NSP антитела.

Схема за избор на епизоотологични единици: Ако има надежден списък с епизоотологичните единици, те могат да бъдат избрани чрез SRS. Избраните епизоотологични единици ще бъдат изходната популация, от която ще бъдат избрани отделните животни.

Схема за избор на отделни животни от всяка епизоотологична единица:

Изборът на отделни допустими животни може да се извърши или чрез SRS процедура, или чрез систематичен произволен подбор.

Размер на извадката за оценка на необходимите епизоотологични единици: Както вече беше споменато, оценката на размера на извадката включва както нестатистически, така и статистически съображения. В този случай статистическите съображения включват два различни въпроса, които трябва да бъдат разгледани. Броят на необходимите епизоотологичните единици зависи от желаната точност на оценката, очакваното разпространение на събитието и необходимото ниво на доверие. За да се оцени размера на извадката с помощта на SRS процедурата, трябва да се използва уравнение 1:

$$n = 1.96 p (1 - p)/e^2$$

Ако е известен общия размер на популацията, отговаряща на условията за вземане на проби е известен и изчисленият размер на извадката е една десета или повече от общия размер на популацията, тогава размерът на извадката може да бъде коригиран с корекционния коефициент на крайната популация.

Размер на извадката за оценка статуса на всяка епизоотологична единица: Първата стъпка е да се установи какво е очакваното разпространение на животни с ниво на антитела, равно или по-голямо от нивото, което да се счита за защитно, ако епизоотологичната единица е била адекватно ваксинирана. След

като този праг е установен, размерът на пробата се изчислява така, че вероятността в извадката да не попаднат животни с такива или по-високи нива на антитела, не трябва да надвишава 5% (което означава, че нивото на доверие ще бъде 95%). В този случай размерът на извадката във всяка епизоотологична единица ще бъде оценен с помощта на следното уравнение:

$$n = [1 - (\alpha)^{1/D}][N - (D - 1)/2] \quad (\text{уравнение 18})$$

където α е вероятността да не се намери дори едно животно с титър на антителата, равен или по-висок от конкретното ниво ($\alpha = 1 - \text{ниво на доверие}$);

D е абсолютният брой животни, за които се предполага, че трябва да показват титър на антителата, равен на или над определено ниво и за които се приема, че ще присъстват (получено чрез умножаване на очакваното разпространение от N); и

N е общият брой животни, отговарящи на условията за вземане на проби във всяка епизоотологична единица.

При вземане на проби от безкрайна популация може да се използва и следната приблизителна формула:

$$n = \log(\alpha)/\log(1-p) \quad (\text{уравнение 19})$$

7. ПЛАН ЗА СПЕШНА ВАКСИНАЦИЯ ПРОТИВ ШАП

Планът за провеждане на извънредна ваксинация срещу шап е документ, определящ действията, които трябва да се предприемат в случай на възникване на огнища на това заболяване и компетентните органи да изберат стратегия, която включва използването на ваксинация. Той съдържа подробности за необходимите човешки и финансови ресурси и за тяхното ефективно и бързо разгръщане, с цел ограничаване на заболяването и на последствията от него. Въпреки че не е възможно да се изготви универсален модел на план за ваксинация при извънредни ситуации, който да бъде идеален за всякакви обстоятелства, ваксинацията се нуждае от план, който е неразделна част от плана за спешни действия, познат още като *contingency plan*. Ваксинационният план трябва да включва:

- Цел, обхват и времеви график за доставка и приложение на ваксината;
- Стандартни оперативни процедури (СОП), контролни списъци и образци на отчетни документи;
- Транспортирането и разпространението на ваксината и осигуряването на хладилни условия по цялата верига;
- Предвиждане на подходящи разфасовки и дозировки в зависимост от големината на фермите и видовете животни в местата за ваксинация;
- Необходимите човешки, финансови и времеви ресурси;
- Логистика по време на кампанията, задължения и отговорности на участниците в плана на централно и местно равнище;
- Комуникационна стратегия, прицелни групи, методи и средства за различните групи;
- Мониторинг върху изпълнението: преди, по време и след приключване на ваксинационната кампания;
- Изходяща стратегия за всяка ситуация.

Разработването на документа, продължителността на неговата валидност и отговорността за актуализирането му трябва да бъде ясно определен.

7.1. Цели, задачи и обхват на плана

Цели: Важно е да има добре дефинирани всеобхватни стратегически цели, задачи и стратегия за програмата за ваксинация. Ако те не са достатъчно ясни на заинтересованите страни, кампанията за ваксинация може да е неефективна.

Стратегическата цел на програмата за ваксинация трябва да бъде изявление за намерение на високо ниво, което отговаря на въпроса „Как спешната ваксинация ще допринесе за контрола на шапа?“.

Например: „Стратегическата цел на програмата за ваксинация е да допринесе за намаляване и елиминирание на разпространението на болестта.

Задачи: Задачата на програмата за ваксинация трябва да отговоря на въпроса „Как ще бъде постигната стратегическата цел?“. Задачите на програмата за ваксинация трябва да бъдат по-конкретни от стратегическата цел и добре дефинирани, за да се даде възможност за приоритизиране на ограничените ресурси в отговора и все пак, те трябва да бъдат достатъчно широки, за да поемат модификация на действителната стратегия или стратегии за ваксиниране, които да се прилагат с развитието на ситуацията.

Например: „Задачите на програмата за спешна ваксинация са:

- да ограничат по-нататъшното разпространение на шапа извън засегнатите групи или територии и да минимизират негативните последици от него;
- предотвратяване на разпространението на шапа към зони с висока степен на риск от предаване на болестта;
- защита на имоти с висока икономическа стойност, промишлени сектори и региони; и
- предотвратяване на разпространението на инфекция в популациите от диви животни.“

Стратегия: За постигане на целите могат да се прилагат различни стратегии за ваксиниране, самостоятелно или в комбинация. Те трябва да вземат предвид епизоотологичните и географските характеристики на възникналото огнище.

Стратегията за спешна ваксинация включва всички свързани политики във връзка с контрола върху ваксинираните животни. Текущото законодателство на ЕС (член 2 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета) определя стратегиите за спешна ваксинация като „защитни“ или „подтискащи“, в зависимост от това дали ваксинираните животни ще бъдат оставени живи в популацията или ще бъдат премахнати (чрез умъртвяване и обезвреждане на трупите им), поради което те се наричат: „ваксинации за живот“ и „ваксинации с последващо умъртвяване“.

Защитна ваксинация означава спешна ваксинация, извършена в стопанствата на определена зона, с цел да се защитят животните от възприемчивите видове в тази зона срещу разпространение по въздушно-капков път или разпространение чрез инвентар и др. предмети на вируса на шапа и когато животните са предназначени да бъдат оставени живи след ваксинацията.

Потискаща ваксинация означава спешна ваксинация, която се извършва във връзка с политиката за изкореняване на щама от дадено стопанство или зона, където има спешна нужда да се намали количеството на циркулиращия шапен вирус и да се намали риска от разпространението му извън границите на периметрите на стопанството или зоната и мястото, където животните са предназначени за умъртвяване след ваксинацията.

Плановите трябва да се разработват във време, когато страната е свободна от шап и компетентните органи не са поставени под напрежение от вземане на спешни решения. В плана трябва да се обмислят различните възможни сценарии и потенциални стратегии за ваксиниране. Когато трябва да се извърши защитна ваксинация на животните, те могат да бъдат оставени да изживеят нормалния си продуктивен живот или да бъдат ликвидирани/заклани по-скоро, за да се улесни възстановяването на търговията.

Пример - Министерството на земеделието на Съединените щати: Червена книга (2020, глава 3) в плановите, разработени или актуализирани по време на огнище на заболяване или при заплаха от такова, избраната стратегия за конкретната ситуация трябва да бъде ясно дефинирана в плана и трябва да включва достатъчно информация за съобщаване на необходимите подробности на

съответните заинтересовани страни (включително индустриални сектори, земеделски производители, персонал за реагиране на терен и потребители). Тази информация може да включва:

- описание на географския(ите) район(и), в който(които) ще бъде извършена ваксинацията;
- описание на зоната за наблюдение около зоната на ваксинация (ако е приложимо);
- ваксинационната стратегия, която ще се използва във всяка област (бариерна, покривна, кръгова или прицелна);
- дали ваксинацията ще бъде потискаща или защитна;
- дали ваксинацията ще е задължителна или пожелателна;
- подходът, който ще се използва (от външния периметър на зоната навътре към центъра, отвътре навън или и от двете посоки);
- персонала, отговорен за прилагането на ваксината;
- целевите видове, възрастовите групи, производствените сектори или видовете стопанства, които ще бъдат ваксинирани;
- целевото покритие (ако е известно);
- как ще бъдат приоритизирани сградите и помещенията;
- графика на ваксинацията, времето и продължителността на кампанията за ваксинация;
- специалните изисквания за идентификация и регистрация на ваксинираните животни; и
- ограниченията, които ще се прилагат за придвижване на ваксинираните и неваксинираните животни от възприемчивите видове, техните продукти и странични продукти в и от зоната на ваксинация.

Пример: „Стратегията на програмата за спешна ваксинация е:

- да започне защитна ваксинация възможно най-скоро;
- да се извърши кръгова ваксинация след потвърждаване на инфекция във фермата;
- да се ваксинират всички говеда на възраст над две седмици в близост до заразените ферми и такива имали опасни контакти;

- да се даде приоритет на стопанствата, разположени най-близо до заразените ферми или такива имали опасни контакти, през последните десет дни;
- да се използва единична доза високоефективна ваксина ($6PD_{50}$) за всяко животно; и
- Конкретни подробности, включително:
 - области, където ще се извърши ваксинация;
 - критерии за приоритизиране на имотите, които ще бъдат ваксинирани;
 - начин, по който ще се извърши ваксинацията (потискащи, защитни, използвани пръстени, насочени, масова ваксинация и др.);
 - видове, възрастови групи, производствени сектори или видове стопанства, които ще бъдат ваксинирани, брой дози на животно и др.

7.2. Управление на ваксинационната кампания

Успехът на ваксинационната кампания зависи от доброто управление. То включва законодателство, политики, стандартни оперативни процедури, образци на документи, контролни списъци, записи, програми за обучение, процедури за управление, надзор, наблюдение и одит, свързани с кампанията. Изисква се законодателно разрешение за внос и употреба на ваксината, правомощия за влизане във фермите и за приложение на ваксината, разрешение за ваксинаторите, определяне на зоните за ваксинация (зони и мерки) и задължително спазване и последващо унищожаване на ваксинираните животни, ако ще се прилага потискаща ваксинация.

Може да се обмисли и компенсация за нежелани реакции в резултат от ваксинацията. Политиките обхващат стратегиите за ваксинация, включително персонала, който ще участва в прилагането на ваксината, приоритизирането на животните, които ще бъдат ваксинирани, и изходящата стратегия. Необходими са процедури за мерките за биосигурност на персонала, почистване и дезинфекция на превозните средства и използваното оборудване, обезвреждане на отпадъците, съхранение и приложение на ваксините, нарушения

на хладилната верига, центрoвете за ваксинация, инструктажи на екипите, които ще провеждат ваксинацията, начин на прилагане на ваксините, идентификацията на животните, регистрация на ваксинираните стада и животни, наблюдение на животните преди и след ваксинацията при съмнение за заболяване или за нежелани реакции, както и възстановяване на разходите за пътуване и издръжка.

Необходими са образци на документи за удостоверяване на извършената ваксинация, заявките за ваксини и оборудването, контрол на протоколите и запасите от ваксинацията и инвентара, искoвете за пътуване и издръжка, търговете и договорите. Необходими са контролни списъци за комплектите за ваксинация, комплектите за биосигурност и информационните пакети за екипите на ваксинаторите. Необходима е програма за обучение за екипите, които ще провеждат ваксинацията. Трябва да се установят ролите и отговорностите на различните заинтересовани страни в кампанията за ваксинация. Всички компоненти на кампанията за ваксинация трябва да бъдат одитирани, за да се гарантира, че всички процедури са надлежно документирани и проверими, както и че системата функционира според набелязания план. Има няколко индикатора, които могат да бъдат наблюдавани и за които трябва да има система за запис. Те включват:

- дял от целевата популация животни и стада, ваксинирани в рамките на определения срок;
- брой използвани дози ваксина в сравнение с броя на ваксинираните животни;
- брой ваксинирани животни в сравнение с данните от преброяването за съответната животинска популация;
- брой доклади за нарушения на хладилната верига;
- изпълнение и спазване от страна на ваксиниращите екипи на стандартните оперативни процедури;
- график и продължителност на кампанията; и
- общи разходи и разходи за отделно ваксинирано животно.

7.3. Логистика

Логистиката обхваща организацията и разпространението на ваксината. Целта е да се гарантира, че избраната ваксина ще бъде доставена от доставчика в искания ден (също като се има предвид закъсненията на доставката на авиокомпанията), в правилното количество и опаковки, подходящо етикетирани, съхранявани, разпространявани, преопаковани и доставени по проследим начин и при подходящи условия за съхранение в стопанствата, за които е предназначена.

Държави като България, които нямат своя собствена банка за ваксини или антигени, могат да получат ваксина чрез процедури за обществени (рутинни и спешни) поръчки. За тръжните процедури е зададена „Ключова информация, която трябва да бъде предоставена от оферента и производителя на ваксината” в приложение 1 по-долу. За държавите членки на ЕС, които желаят да получат ваксина от Антигенната банка на ЕС, е необходим списък с ключова информация, по отношение на „Заявката за заготовката на ваксината срещу шап от антигенните запаси в антигенната банка на ЕС“, може да бъде намерен в Приложение 2 по-долу.

Веригата за разпространение на ваксините ще зависи от това, кой ще бъде упълномощен да извършва ваксинацията. Веригата за разпространение трябва да включва централно съоръжение за съхранение (център за съхранение), където ваксината се съхранява преди разпространението до местните съоръжения, в близост до зоната на ваксинация. Националният отговорник по ваксинацията трябва да контролира центъра за съхранение на ваксините, а местните отговорници - разпространението на ваксината до ветеринарните лекари на място. Те ще отговарят за воденето на записи за количествата използвана ваксина, стопанствата и ваксинираните животни, както и за събирането на всяка неизползвана ваксина.

Поддръжката на хладилната верига е ключов компонент на плана. Замразяването или затоплянето над 8°C на ваксината са вредни за съхраняване целостта на капсида на вируса на шапа (вирион/ вирусна частица) и спомагат за разпадането на капсида и загубата

на имуногенност. Поради това е важно да се поддържа хладилната верига до точката на ваксинация и флаконите с ваксини да се съхраняват в хладилни чанти дори във фермата, особено при топли условия. Препоръчва се ежедневното наблюдение на температурите на съхранение и използването на температурни регистриращи.

7.4. Персонал

За да приложите програма за спешна ваксинация (или която и да е програма за ваксинация), е необходимо да разполагате с обучен персонал, със законово разрешение, технически познания и ресурси за извършване на ваксинацията и всички свързани с нея задачи. Съставът на полевия екип за ваксинация - размер, структура и роли ще трябва да бъдат решени в зависимост от ситуацията. Ваксинаторите могат да бъдат официални или частно практикуващи ветеринарни лекари. Като алтернатива, могат да се използват ветеринарни техници, договорно нает помощен персонал или фермери, могат да участват във ваксинацията под официалния надзор на представители на БАБХ. Когато се обмисля използването на непрофесионални ваксинатори е важно да се прецени предимството от освобождаването на ветеринарен персонал за други критични дейности срещу риска от неправилна ваксинация и загуба на възможности за клинично наблюдение във фермата. Решението може да зависи от тежестта на кризата и произтичащото от това натоварване на ресурсите. Екипите трябва да включват и персонал за боравене и идентифициране на животните. Трябва да се изчисли броят на необходимите екипи. Той ще се основава на броя и размера (брой животни) на стопанствата, които трябва да бъдат ваксинирани на ден. Работният поток на ваксинацията (т.е. организационната структура на работната сила) също трябва да бъде решен.

Освен на екипите за ваксинация, трябва да се обърне специално внимание и на помощния персонал, който ще отговаря за другите задачи, необходими за прилагане на плана за ваксинация:

- Бюджета за ваксината, хладилното ѝ съхранение, транспорта, прилагането, мониторинга на ваксинацията и пост-ваксинационния имунитет, разработването на база данни, контрола на движението, клиничното и серологично наблюдение и лабораторните изследвания.
- Изготвяне или промени в законодателството и разпоредбите за разрешаване на ваксинацията и наемане на ваксинатори;
- Издаване на разрешение за употреба на ваксината.
- Източник и закупуване на ваксината, плюс оборудване и консумативи за ваксинацията, хладилна верига, идентификация на животните, биосигурност и лабораторни изследвания.
- Издаване на лицензи за внос и употреба на ваксина.
- Идентифициране, подбор и/или осигуряване на екипи за ваксинация и провеждане на инструктаж с тях.
- Образец на протоколи за екипите за наблюдение и ваксинация, съхранение, транспорт и прилагане на ваксините, съгласуване на запасите, мониторинг и оценка от прилагането и въздействието на ваксинацията.
- Образец на протокол за разследване на потенциални повреди на ваксините.
- Образец на карти и сертификати за ваксинация.
- Образец на информационни пакети за фермери и екипите за ваксинация.
- Извършване на наблюдение преди, по време и след ваксинацията.
- Извършване на лабораторни изследвания (включително за съвпадение на ваксините и тестове за потентност).
- Упражняване на контрол върху движението.
- Разработване на учебни материали и обучение на екипите за ваксинация.
- Създаване на местни центрове за ваксинация.
- Преброяване и приоритизиране на стопанствата, които ще бъдат ваксинирани.
- Актуализиране на списъка с екипите за ваксинация.
- Разпространение на ваксината и оборудването за ваксинация,

поддръжка на хладилната верига, идентификация на животните и биосигурността на фермите.

- Разработване на електронна база данни за регистриране и отчитане на ваксинираните стада и животни.
- Вписване на ваксинацията в базата данни.
- Наблюдение и попълване на запасите от ваксина.
- Наблюдение и оценка на ефекта от приложените ваксинации.
- Възстановяване на разходите на неправителствения персонал, ангажиран с ваксинацията.
- Разработване и изпълнение на комуникационния план.

7.5. Биосигурност

Прилагането на строги мерки за биосигурност от ваксинаторите и персонала в центровете за ваксинация е от съществено значение по време на кампаниите за ваксинация. Това включва използването на подходящи лични предпазни средства (ЛПС) и оборудване за дезинфекция, процедури за влизане/излизане към/от фермите, безопасно обезвреждане на неизползвана ваксина и дезинфекция на оборудването за ваксинация. Освен това превозните средства също трябва да се почистват и дезинфекцират.

7.6. Наблюдение

Програмите за наблюдение включват:

- надзор преди ваксинация в зоната на ваксинация;
- нежелани реакции по време и след ваксинацията;
- наблюдение в зоната за надзор на ваксинацията; и
- следваксинално наблюдение в зоната на ваксинация.

Наблюдението преди ваксинацията включва клиничен преглед на животните в зоната на ваксинация, преди самата ваксинация, за да се потвърди, че те са свободни от шап. Обикновено се извършва от екипи за наблюдение по време на посещения преди пристигането на екипа за ваксинация или от екипите за ваксинация по време на

ваксинацията. Нежеланите реакции от ваксинацията трябва да се докладват рутинно и да се изследват. Където се съобщава за клинични признаци на шап след ваксинацията, трябва да се извърши пълно изследване, в т.ч. лабораторни изпитвания, за да се определи дали това се дължи на полевия щам или на ваксината.

Съгласно член 52 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета има изискване да се създаде зона за наблюдение, която трябва да бъде с минимум 10 km радиус от периметъра на зоната за ваксинация и трябва да остане такава, докато се възстанови статусът на зоната като свободна от шап. Трябва да се извърши засилено наблюдение, за да се докаже, че болестта не е прескочила отвъд зоната на ваксинация. Необходим е засилен надзор, но когато няма конкретни подробности, се разбира клиничен преглед на възприемчивите животни, извършен както по време на кампанията за ваксинация, така и след приключването ѝ. Пост-ваксинационното наблюдение трябва да се извърши след приключване на ваксинацията, за да се оцени ефективността ѝ. Може да се извърши от екипите за ваксинация или друг подготвен персонал.

7.7. Идентификация и регистрация на животните

Идентификацията е необходима, за да се разграничат ваксинираните от неваксинирани животни и за наблюдение и удостоверяване на ваксинацията. Законодателството на ЕС изисква всички ваксинирани животни да имат постоянни и незаличими маркировки, в допълнение към нормалните изисквания за идентификация. Идентификационният знак трябва да бъде лесно видим, за да се гарантира, че движението на ваксинирани и неваксинирани животни може да бъде адекватно контролирано. Проследяемостта трябва да бъде осигурена чрез регистриране на всички ваксинирани животни и стада/стада в централна официална електронна база данни. Може да се наложи да се разработи допълнителна база данни за диференциране на ваксинираните животни и стада. Трябва да е възможно да се проследяват стадата, вписани за ваксинация, тези, при които ваксинацията е в процес, и

тези, при които ваксинацията е завършена. Трябва да се изготвят протоколи за събиране на данни, въвеждане на данни и докладване.

7.8. Контрол върху придвижването

Няма риск за човешкото здраве от ваксинираните животни и техните продукти. Рискът за здравето на животните е много нисък, но не е за пренебрегване, тъй като ваксинацията не винаги е ефективна. Допълнителна информация по този въпрос: *Feng (2017)*, *Paton et al. (2010)* и *Sutmoller et al. (2003)*. Ключово изискване при прилагане на ваксинация срещу шап е прилагането на контрол върху придвижването на животни от възприемчиви видове, техните продукти и странични продукти от и в зоните на ваксинация. Този контрол върху движението е допълнителен към контрола, прилаган в защитените и надзорните зони. Настоящите изисквания на ЕС са сложни и зависят от фазата на кампанията за ваксинация. Контролът трябва да се поддържа, докато статутът на зоната/държавата като „свободни от шап“ не бъде възстановен. Членове 54–58 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета определят мерките, които трябва да се предприемат в зоната за ваксинация по време на следните фази:

- **фаза 1:** от началото на кампанията за ваксинация до 30 дни след приключването ѝ;
- **фаза 2:** 30 дни след приключване на ваксинацията до извършване на клинично и серологично изследване и всички ваксинирани стада са класифицирани като заразени или не;
- **фаза 3:** от класификацията на стадата до възстановяване на статуса на „свободна от шап“ територия.

Определени движения могат да бъдат разрешени при условия, които могат да включват:

- инспекция преди движението от стопанствата;
- мерки за биосигурност;
- определяне на стопанства, предприятия и транспортни маршрути;
- отделни условия за транспорт и съхранение;
- специални предкличични проверки;
- надзор;

- използване на специални идентификационни знаци за месото (включително кръстосан знак);
- използване на специални обработки за продукти и страничните продукти; и
- лицензиране и сертифициране.

Основните съображения, свързани с плана за спешна ваксинация са изискванията за третиране на месото от преживни животни и свине, добито от ваксинирани животни, по време на някои или във всички фази на програмата за ваксинация. Месото от едри преживни животни трябва да бъде термично обработено (варено) или обезкостено, транжирано и отлежало според специфични стандарти. Месото от дребни преживни животни и свине трябва да бъде термично обработено. Единственото изключение от третирането е за свинското месо, добито по време на фаза 3 на ваксинационната програма. За да се изпълнят определените условия, трябва да бъдат идентифицирани подходящи преработвателни предприятия, налични печати и протоколи. Резюме на съответните препратки в Директива 2003/85/ЕО на Съвета за живи животни, месо, мляко и странични продукти през различните фази е включено в приложение 3 по-долу.

7.9. Наблюдение и оценка на ваксинацията и стратегия за изход

Наблюдението и оценката трябва да се извършват периодично в хода на кампанията, за да се даде възможност за навременно прилагане на коригиращи мерки, ако е необходимо. Въз основа на целите и задачите на програмата за ваксинация следва да се оценят следните резултати:

- ефикасност на ваксината;
- процент на ваксинираните животни;
- популационен имунитет;
- отсъствие на вирусоносители (неразкрита инфекция) сред ваксинираните животни;
- намаляване на честотата на новите случаи на заболяване

(*incidence*), разпространението (*prevalence*) и на негативните последици от заболяването;

- честота и тежест на страничните ефекти.

След като болестта бъде ликвидирана, целта е да се възстанови статута на страната или на част от нея като „свободна от шап“. Пътят към възстановяване на този статут се нарича „изходяща стратегия“. Когато ваксинацията спре, ще е необходимо да се промени законодателството, да се забрани вноса и употребата на ваксина и да се посочат подходящи мерки за контрол на оставащите запаси от ваксини.

За да се възстанови статута на страната или на част от нея като „свободна от шап“, е необходима оценка, която да се основава на доказателства за признаване на такъв статут, за да успокоят търговските партньори. Необходими са два вида доказателства, които трябва да бъдат много добре документирани:

- изпълнение (доказателство, че ваксинацията е извършена според предварителния план);
- въздействие (доказателство, че болестта и инфекцията е ликвидирана и вече не се срещат).

Трите стъпки за получаване на статут на страна „свободна от шап“ според ОИЕ са:

1. **Статут на страна условно свободна от дадена болест** – Ветеринарната служба декларира пред ОИЕ, че след ликвидиране на огнищата на шап, страната вече е свободна от болестта и не се провежда ваксинация против тази болест.
2. **Статутът на свободна от болестта страна** – изисква страната да е преустановила ваксинацията за определения в кодекса на ОИЕ период, да няма регистрирани случаи след като е декларирала, че е условно свободна и е представила доказателства под формата на резултати от програмата за надзор преди официалното ѝ признаване.
3. **Статут на страна, свободна от инфекция** – страната трябва да продължи надзора след получаване на статут на свободна от болестта и след като е представила доказателства,

че популацията се е освободила от патогенния агент и има действаща система да предотврати повторно проникване на инфекцията.

7.9.1. Изпълнение на ваксинационната програма (доказателство, че ваксинацията е извършена добре)

Информацията, необходима за наблюдение на изпълнението на програмата за ваксинация, включва ефикасността на ваксината, обхвата на ваксинацията, нивото на популационния имунитет и липсата на нови случаи на шап и вирусоносители сред ваксинираните. Вижте FAO и OIE (2016, глава 4) за пълни подробности.

- **Ефикасност на ваксината (потентност и хомоложност/ съвпадение на ваксиналния и теренния щам)**

Ефикасността на ваксината е мярка за това колко добре ваксината защитава ваксинираните животни от заболяване, репликация на вируса, отделяне на вируса или предаване на вируса, когато се тества при контролирани условия, при които ваксинацията и заразяването са добре характеризирани. Ефикасността показва вътрешното качество на ваксината. Ефикасността на всяка партида ваксина срещу шап трябва да бъде гарантирана от производителя. Въпреки това, една независима оценка може да осигури допълнителна гаранция за ефикасността на ваксината и пригодността на щама. Може също така да се позовем на нивото на антителата при ваксинираните животни известно време след ваксинацията, доказано с помощта на специфичен тест. В идеалния случай тази оценка трябва да се извърши преди по-широко използване на ваксината. Въпреки, че в много случаи не е възможно да се завърши такова проучване, преди да е взето решението за ваксинация, то е необходимо, за да даде увереност на търговските партньори и да помогне за калибриране на проучванията за популационния имунитет.

Забележка: Ефикасността на ваксината се различава от нейната ефективност. Последната е мярка за защита срещу даден нежелан резултат, обикновено заболяване или инфекция, получена от сравнението между честотата на изхода при ваксинирани и неваксинирани животни в рамките на една и съща популация. Това

зависи не само от първоначалното (присъщо) качество на ваксината, както е предоставено от производителя, но също така и от външни фактори, като въздействието на съхранението и разпространението на ваксината, степента на хомоложнаст (съвпадение) на ваксиналния с теренния щам, графика за ваксинация и косвено, покритието на ваксинацията.

- **Обхват на ваксинацията (покритие с ваксини)**

Обхватът (покритието) с ваксини обикновено се определя като делът на животните, които отговарят на условията за ваксиниране и действително са ваксинирани или делът на ваксинираните животни от цялата възприемчива популация. Затова е важно да е ясно, кой знаменател се използва в уравнението. Покритието с ваксини е необходимо за контрол на шапа и зависи от скоростта на разпространение на вируса – която пък зависи от начина на отглеждане и придвижване на животните и други рискови фактори, свързани с непрякото разпространение на вируса. Когато става въпрос за шап, често се цитира като цел на ваксинационната кампания, постигане на 80% обхват за определен период от време. Покритието с ваксини се използва като индикатор за ефективността на системата за разпространение и доставка. Данните трябва да бъдат стратифицирани по видове, възраст, географско местоположение и тип производствена система. Информацията за покритието се използва за различни цели: за наблюдение на изпълнението на ваксинацията; за контрол на заболяването и за идентифициране на слабостите, които може да изискват допълнителни ресурси и внимание. В идеалния случай системата за проследяване на ваксините трябва да позволява проследяване на отделните партии ваксина от централния до местните центрове и от там до ваксинаторите.

- **Популационен имунитет**

Популационният имунитет може условно да се раздели на:

- *общ популационен имунитет (ОПИ)*, т.е. делът (процентът) на животните с имунитет в цялата популация от възприемчиви към шап животни; и
- *имунитет на ваксинираната популация (VPI)*, т.е. делът на животните с имунитет в частта от чувствителната популация животни, подлежаща на ваксинация.

Общият популационен имунитет (ОPI) е функция от обхвата на ваксината и дела на животните, които са отговорили на ваксинацията, като включва и имунитета, дължащ се на инфекция или антитела, получени от майката. ОPI е най-добрият индикатор за това колко лесно вирусът може да се разпространи в популацията и да причини заболяване.

Имунитетът на ваксинираната популация (VPI) е индикатор за имунния отговор на животните на ваксинацията и когато се комбинира с данни за ваксиналното покритие, осигурява цялостна мярка за качеството на програмата за ваксинация. Това има значение за това, дали целта е да се вземат проби само от ваксинирани животни или от цялата популация.

Изследванията на популационния имунитет трябва да бъдат стратифицирани по видове, географско местоположение и тип производствена система. Най-лесно е да се съди за имунитета около 21 до 28 дни след ваксинацията. Възможно е да се използва подгрупа от проби от проучването на неструктурните протеини (NSP), събрани по време на фаза 2 от кампанията за ваксинация, като се има предвид, че според законодателството на ЕС това проучване може да започне едва 30 дни след приключване на ваксинацията. В случай на множество зони за ваксинация, изследването може да бъде стратифицирано по зони на ваксинация.

За да се оцени дали нивото на имунитета е според очакванията, серологичните титри в популацията могат да бъдат сравнени с тези, получени при животни, на които е приложена от същата партия ваксина при контролирани условия, като част от процедурата за изпитване на партидата от производителя. Оценки на действителните нива на защита могат също да бъдат направени чрез сравнение със серологичните резултати от експериментални провокационни тестове за имуногенност на ваксината и/или чрез серологични изследвания, които измерват нивата на антителата към вируса на шапа от огнището.

Пример: Обхват на ваксинацията (покрытие с ваксини) и изчисления на популационния имунитет.

Ако: Обща популация = 30 животни

Допустима популация = 24 животни

Ваксинирано поголовие = 20 животни

Имунна популация = 14 животни

Тогава: Покритието с ваксини (% от отговарящите на условията за ваксинация животни, които действително са ваксинирани) е: 20 от 24 = 83%

Ваксинираният процент от популацията е: 20 от 30 = 67%

Имунитетът на ваксинираната популация е: 14 от 20 = 70%

Общият имунитет на популацията е: 14 от 30 = 47%

- **Въздействието на ваксинацията върху заболяването (доказателство, че болестта и инфекцията вече са ликвидирани)**

Привеждане на доказателства за въздействието на ваксинацията е основно регулаторно изискване в Директива 2003/85/ЕО на Съвета и идва от три източника:

а) Епидемиологично проследяване

Изискванията за епидемиологично проследяване са определени в член 13 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета. То изисква идентифициране на стопанствата, свързани със заразени животновъдни обекти или с такива, за които има съмнения, че са били изложени на риск от заразяване (наречени стопанства в опасен контакт). Важно е всички опасни контакти да бъдат внимателно проследени.

б) Клинично наблюдение

Клиничното наблюдение трябва да се извършва в защитните зони, зоните за наблюдение и ваксинация:

- Защитната зона е зоната около и включително мястото на огнището, където се прилагат мерки за контрол на болестта, за да се предотврати по-нататъшното ѝ разпространение извън тази зона.
- Надзорната зона е зоната, която е създадена около защитената зона и където се прилагат мерки за контрол на болестта, с цел предотвратяване разпространението и от защитената зона.
- Зоната на ваксинация е зоната, в която трябва да се извърши

ваксинация и може да включва части или целите зони за защита и наблюдение.

Изискванията за клинично наблюдение в зоните за защита, наблюдение и ваксинация са определени в членове 36, 44 и 56 и приложение III на Директива 2003/85/ЕО на Съвета. За всички зони клиничният преглед трябва да включва всички животни от възприемчивите видове, във всички стопанства без изключение. Времето за започване на клиничното наблюдение варира в зависимост от зоната:

- В защитената зона (по чл. 36) може да започне 15 дни след приключване на предварителното почистване и дезинфекция на заразените помещения/стопанства.
- В зоната за наблюдение (по чл. 44) може да започне 30 дни след приключване на предварителното почистване и дезинфекция на заразените помещения/стопанства.
- В зоната на ваксинация (по чл. 56) тя може да започне 30 дни след приключване на спешната ваксинация.

в) Серологичен надзор

Изискванията за серологичен надзор в зоните за защита, наблюдение и ваксинация също са определени в членове 36, 44 и 56 и приложение III към Директива 2003/85/ЕО на Съвета.

- *В защитната зона (по чл. 36)*, серологичният надзор може да започне, когато са изминали най-малко 15 дни от приключване на предварителното почистване и дезинфекция на заразените помещения/стопанства. В стопанствата с неваксинирани възприемчиви видове (особено при овцете и козите) само клиничните прегледи не са достатъчно надеждни и трябва да се вземат проби за лабораторни изследвания. Постановката на пробовземането е да се използва предполагаемо разпространение на инфекцията в стадото от 5%.
- *В зоната за наблюдение (по чл. 44)*, серологичният надзор може да започне, когато изминат най-малко 30 дни от приключване на предварителното почистване и дезинфекция на заразени помещения/стопанства. От всички стопанства с неваксинирани възприемчиви видове, (особено овце и кози), където клиничното наблюдение не е надеждно, трябва да се вземат проби за лабораторни изследвания с разчет на предполагаемо разпространение на инфекцията от 2% между стадата и 5 % в стадото.

- *В зоната на ваксинация (по чл. 5б)* наблюдението може да започне, когато са изминали най-малко 30 дни от последната ваксинация. От всички ваксинирани животни и тяхното неваксинирано потомство трябва да бъдат взети проби за серологично изследване за наличието на антитела срещу NSP на вируса на шапа. (NSP тестът диференцира пост-инфекциозния от пост-ваксинален имунитет, чрез измерване на имунния отговор (антителата) към инфекциозния вирус, а не към ваксинален, когато са използвани добре пречистени ваксини с намалено замърсяване с NSP). Тази оценка е полезна за откриване на циркулация на вируса сред ваксинираните животни. Изискването за тестване на всички ваксинирани животни и тяхното неваксинирано потомство се нарича „изчерпателно изследване“. То е ресурсоемко за службите на място и за лабораториите и трябва да се има предвид при набавянето на диагностикуми. Изчерпателното изследване увеличава чувствителността на проучването, но причинява проблеми със специфичността му. Така, ако 100 000 животни бъдат подложени на изследване с тест, който е с 99,5% специфичност, може да се очакват около 500 фалшиво положителни резултати. Ако се тества стадо с 600 животни, може да се очакват 3 фалшиво положителни резултата. Но тъй като те трябва да бъдат класифицирани като стада, които са заразени или свободни от шап, следва да се използват други методи като клинични и епидемиологични изследвания и допълнителни лабораторни потвърдителни изследвания. Ако има доказателства за продължаващо предаване на вируса, това може да е резултат от неадекватен имунитет (дължащ се на лошо качество или несъответствие на ваксината, ваксинация, която е извършена късно или животните са неправилно ваксинирани) или са избрани неадекватни контроли (поради забавено откриване и/или реакция, лош надзор или неадекватни мерки за биосигурност).

8. КОМУНИКАЦИОННА СТРАТЕГИЯ

Успехът на програмата за спешна ваксинация в голяма степен зависи от осведомеността, приемането и сътрудничеството на различните заинтересовани групи. Предимствата и недостатъците на ваксинацията трябва да бъдат ясно обяснени преди провеждането на кампанията за ваксинация.

Целта/целите и стратегията на кампанията за ваксинация при шап, са в основата на комуникационната стратегия и трябва да са ясни за всички заинтересовани страни.

Комуникационният план трябва да идентифицира необходимите промени в поведението, ключовите заинтересовани групи, към които да бъдат насочени стратегиите, задачите, съобщенията, продуктите и каналите, времето и наблюдението и оценката на ефективността. Информация за ключовите заинтересовани групи, напр. ветеринарният персонал, екипите за ваксинация, частните ветеринарни лекари, фермерите, преработвателите на месо и мляко, търговците на дребно и потребителите трябва да бъдат подготвени преди започване на ваксинацията. Ролите и отговорностите им в комуникационния план трябва да са ясни. За повече информация вижте Комуникация относно риска за планиране на EuFMD относно шап: Ръководство (2021).

Информацията за екипите за ваксинация трябва да включва, напр. известие на законодателния орган за влизане в помещения и ваксиниране на животните, права на собственика на стадото/ стопанството, информационни листовки относно ваксинацията и контрола на шапа, както и информация за мрежите за подкрепа и източници на съвети.

9. ДИАГНОСТИЧНИ ЛАБОРАТОРНИ МЕТОДИ

Използваните лабораторни методи за диагностика на шапа могат да бъдат разделени условно на директни (вирусологични) методи за откриване на шапен антиген или част от неговия геном, каквито са антиген ELISA, РСК, полимеразна верижна реакция (PCR), полимеразна верижна реакция с обратната транскрипция (RT-PCR), хроматографски методи, ИЕМ и индиректни (серологични) методи за установяване на антитела срещу вируса на шапа в резултат на иницирания имунен отговор в процеса на една шапна инфекция, като: ELISA, ВНР, РПХА, ИДР и др.

Съвременните серологични методи за диагностика на шапа, описани в Ръководството за диагностични тестове и ваксини на ОИЕ (*Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*), са насочени към доказване основно на антитела от клас IgG в клинични проби от различно естество, като кръвен серум и мляко. Те могат да бъдат използвани както за проследяване на имунния отговор във ваксинирана популация животни, така и като потвърдителен тест при клинично инфектирани животни, имайки предвид бързия имунен отговор при шапната инфекция (8 – 12 дни), и особено в случаите, когато заболяването протича с по-слабо проявена клинична картина или при установяването на по-стари лезии. Статистически, извършването на серологично изследване дава възможност за доказване на липса на инфекция от шап в дадено поголовие или регион. Рутинно използваните серологични тестове за диагностика на шапа са ензимсвързаните имуносорбентни тестове (ELISA) и реакция вирус/серум неутрализация (SNT), които реакции се правят само в Референтната лаборатория на ЕС и в няколко други лаборатории, които имат условия да поддържат живи шапни вируси при съответни условия на биосигурност (BSL-3 ниво). Ензим свързаните имуносорбентни методи (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) са разработени за установяване на антитела срещу структурните (1D, 1B, 1C и 1A) или неструктурните (3A, 3D-полимераза, 2C, Lb и 3 ABC-поли протеин) протеини на вируса. За пръв път ELISA методът е приложен от *Abu Elsein* и *Crowther* за доказване на антитела срещу шапен вирус в серуми от ваксинирани и реконвалесцентни говеда.

Ензим свързаните имуносорбентни методи са съчетание между методите на белязаните антитела и имуносорбентните методи, при които единият от компонентите на реакцията антиген – антитяло е имобилизиран на твърд носител (полистиренова микроплака). Това дава възможност за протичането на цяла каскада от последователни имунни реакции, след всяка от които течната фаза се отлива и плаката се промива. Върху стените на ямките на използваната микроплака остава адсорбиран комплексът от антиген и антитяло, който встъпва в следваща реакция с добавените компоненти. За визуализиране на реакцията се използват антитела, маркирани с ензим (най-често пероксидаза от хрян), който има свойството да разгражда определен субстрат (ортофенилендиамин в присъствието на водороден пероксид), при което се получава цветна реакция. Отчитането се извършва на ELISA спектрофотометър, чрез измерване на оптичната плътност (екстинкцията) на получения цветен продукт при определена дължина на вълната. Това е бърз, чувствителен и лесно изпълним метод, който елиминира неудобствата, свързани с работа с клетъчни култури и субективността при отчитането на резултатите при използване на вируснеутрализационни реакции.

В практиката се използват различни варианти и модификации на ELISA метода: течногофазната (LPBE) и твърдофазната (SPBE) ELISA са насочени към доказване на антитела срещу структурните протеини на шапния вирус и позволяват серотипово определяне на циркулиращия вирусен щам, но изискват повече време за изследване на пробата за всеки серотип на вируса поотделно, което ги прави неподходящи за целите на серологичния мониторинг.

Течнофазната блокадна ELISA (LPBE) се използва за откриване на антитела срещу различните серотипове на шапния вирус. Тестът се основава на специфично блокиране на шапния антиген в течна фаза от антителата в изследваната проба. Плаките се натоваарват предварително със специфични заешки антитела. След неутрализация, сместа серум/антиген се пренася на вече сенсibiliзираната ELISA плака. Чувствителността на течногофазната блокадна ELISA е 99% при специфичност 95%.

Напоследък все повече се налага твърдофазната конкуритивна ELISA (SPH – CELISA). Тя показва по-висока чувствителност и

специфичност (99.8%) и доказва антитела срещу шапния вирус още на 5-ия – 8-ия ден след експерименталното заразяване на животни.

При първичната диагностика на шапа приоритет се дава на чувствителността на ELISA метода, но трябва да се отчита, че тя е за сметка на по-ниската ѝ специфичност (т.е. по-голям брой фалшиво положителни резултати). Това съотношение на параметрите чувствителност и специфичност се означава като “*Cut off*” и трябва да се има пред вид при отчитане на резултатите.

Разработена е и модификация на ELISA метода, която позволява разграничаване на ваксинираните от инфектираните или конвалесцентните животни, без значение с кой серотип на вируса на шапа са били заразени. Тя има изключителна практическа стойност и е особено подходяща за целите на превенцията, особено в страни, в които се прилага ваксинация, като част от стратегията им за борба със заболяването. На пазара са достъпни т. нар. NSP (*non structural proteins*) ELISA тестове в подкрепа на т.н. DIVA (*differentiation of infected from vaccinated animals*) стратегия.

NSP ELISA методите се базират на откриване на антитела срещу неструктурните протеини (Lb, 3A, 3D polymerase, 3C protease, 3ABC поли протеин и др.) на шапния вирус. Тези протеини не влизат в състава на новообразуваните вирусни частици, но остават в организма на преболедевалите (инфектирани) животни. Антителата, образувани срещу тях, могат да служат като „маркер” за наличието на естествена инфекция, тъй като нормално неструктурни протеини не се съдържат в пречистените ваксини или са в много ниски количества, за да предизвикат имунна реакция. Трябва да се има предвид обаче и възможността такива антитела да са вследствие от многократна ваксинация на животните или при използването на не добре пречистен ваксинален вирус.

Използването на тази техника в програмата за надзор на шапа в България се обосновава с общата ни граница с Република Турция, в чиято азиатска част (Анадола) годишно се регистрират стотици огнища на шап, предизвикани от различни серотипове на вируса (O, A или Азия-1).

NSP ELISA тестовете са лесно изпълними и дават възможност за бърза диагностика на заболяването без значение от циркулиращия

на терена вирусен серотип, което ги прави много подходящи за извършване на серологичен надзор, особено в страни, които прилагат ваксинация като част от мерките за борба с шапа. Те са основен инструмент при изпълнение на новата стратегия на ЕС за борба с шапа, в сила от месец май 2002 г., т.нар. “*vaccine to live*”, която допуска ваксиниране на възприемчивите животни в надзорната зона на шапното огнище, без да е необходимо последващото им унищожаване. Това води до скъсяване на сроковете с наложени рестриктивни мерки на засегнатите държави и възстановяване на статута им на свободни от шап в рамките на 6 месеца, само при положение, че може да се диференцират ваксинираните от инфектирани (конвалесцентни) животни, посредством използването именно на NSP ELISA метод.

Освен за целите на серологичния мониторинг NSP базираните ELISA методи са подходящи и за определяне на серологичния статус на възприемчивите животни при търговия с живи животни, което е от практическо значение в условията на настъпващата глобализация и все по-интензифициращите се търговски отношения между страни от различни континенти. Диференцирането на ваксинирани от естествено инфектирани животни е важно, особено ако животните произхождат от ендемични за шап страни или региони. В страни, които прилагат профилактична ваксинация, като средство за контрол на заболяването, NSP ELISA методът дава възможност за контрол на ефикасността от проведената ваксинация, конкретизирайки дали получените високи ваксинационни титри, при изследване с рутинните диагностични тестове като BHT и LPB или SPH CELISA, се дължат на ефективна ваксинация или са в резултат на естествена инфекция. Повечето европейски страни, в това число и България, прилагат политика на пълен отказ от профилактична ваксинация и притежават статут на държави, свободни от шап без ваксинация.

10. ПРИЛОЖЕНИЯ КЪМ ПЛАНА ЗА СПЕШНА ВАКСИНАЦИЯ

Приложение 1. Ключова информация, която трябва да се предостави от участника в търга и производителя на ваксината

1. Информация, която трябва да бъде предоставена от заявителя:

- Вирусният(ите) щам(ове), който(и) да бъде(ат) включен(и) във ваксината;
- видовете животни, за които е предназначена ваксината;
- броят на заявените дози;
- обема на ваксиналната доза и броя на дозите във флакон;
- естеството на предпочитания адювант и заготовката (формулировката) на ваксината;
- специални изисквания по отношение на етикета (напр. размер, език и предупреждения).

2. Информация, предоставена от производителя

Общи изисквания:

- Процесът на производство на ваксината и тестването за контрол на качеството на крайната партида и крайният продукт трябва да бъде проведен в съответствие със Стандартите на Световната организация за здравето на животните (OIE).

Ваксината трябва да се произвежда в съоръжения, които отговарят на съответните изисквания и да имат лиценз от националните регулаторни органи.

Специфичните изисквания са както следва:

- тип ваксина – посочете серотип(ете) на ваксината и щам(овете);
- вида на инактиватора;
- видове – ваксината срещу шап трябва да бъде одобрена за употреба при целевите животни;
- количество – посочете брой дози и дози на флакон;

- маршрут – посочете пътя на приложение;
- адювант – посочете вида на адюванта (единична маслена емулсия, двойна маслена емулсия или алуминиев хидроксид и сапонин);
- имуногенност – посочете силата на ваксината в PD_{50} (обикновено се предпочитат поне шест протективни дози 50% ведна ваксинална доза - $6PD_{50}$ за спешна ваксинация), посочете началото (обикновено две седмици след ваксинацията) и продължителността на имунитета (обикновено шест месеца);
- стабилност – трябва да се посочи срокът на годност на ваксината (готов продукт или партида) - обикновено период от най-малко 12 месеца;
- референтни серуми – посочете дали оферента може да предостави серуми, добити срещу хомоложните ваксинални щамове, които да бъдат използвани, като референтни стандарти при серологичните тестове за следваксинално наблюдение;
- препоръчителна схема за ваксинация – обикновено се препоръчва първичен курс с две дози за постигане на шестмесечна защита с 3 PD_{50} ваксина, но единична доза при 6 PD_{50} може да бъде достатъчна за спешна ваксинация, в зависимост от степента на хомоложност на ваксиналния и терения щам.

Тръжното досие трябва да бъде представено на желания език и трябва да предоставя документация/доказателство за всички изброени по-горе точки, както и датата и входната точка на доставка, препоръките за съхранение и датата на изтичане.

Приложение 2. Искане за изготвяне на ваксина срещу шап от антигенните запаси в антигенната банка на ЕС

1. Кога може да се направи заявка?

Съгласно член 50 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета, решение за въвеждане на спешна ваксинация може да се вземе, ако е приложимо едно от следните условия:

- Огнища на шап са потвърдени и заплашват да станат широко разпространени в държавата членка, където са потвърдени такива огнища.
- Други държави членки са изложени на риск поради географското си положение или преобладаващите метеорологични условия във връзка с докладвани огнища на шап в държава членка.
- Други държави членки са изложени на риск поради наличие на епидемиологично значими контакти между стопанства на тяхната територия и стопанства, отглеждащи животни от възприемчиви видове в държава членка, в която има огнища на болестта шап.
- Държавите членки са изложени на риск поради географското положение или преобладаващите метеорологични условия в съседна трета страна, където има огнища на болестта шап.

2. Към кого се отнася искането за ваксина?

- Искането за ваксина трябва да бъде изпратено до началника на отдела за здравеопазване на животните на SANTE DDG2.D.2.
- След като Европейската комисия одобри искането, тя ще го препрати на доставчика на ваксината.

3. Каква информация е необходима в подкрепа на искането за ваксина?

Необходимата информация включва: щамът(овете), с които е изготвена ваксината, видовете животни, които трябва да бъдат ваксинирани, броят на дозите, формулировката, размерът на флакона, подробности за доставката и спешността на доставката.

а) Щам (ове)

- Има седем серотипа и множество топотипове, генотипове и щамове на вируса на шапа и вирусът постоянно мутира.
- Съпоставянето на ваксините ще се извършва от референтната лаборатория на ЕС
- За съпоставянето на ваксиналните щамове и теренните изолати на вируса се използват серологични тестове, с помощта на които се определя степента на хомоложност (стойности r_1), за да се оцени очакваната защита на ваксината срещу полевия изолат.
- стойности на $r_1 \geq 0,3$ вероятно ще осигурят защита (по скалата от 0–1).
- При стойности на $r_1 < 0,3$, високите хетероложни вирус неутрализиращи титри на антителата все още могат да бъдат показателни за една добра защита *in vivo*.
- След консултация с доставчика, Референтната лаборатория на ЕС ще направи препоръка за най-подходящия ваксинален щам, съответстващ на този, циркулиращ в засегнатата държава членка.
- Възможно е да се препоръча включването на повече от един щам във ваксината, за да се осигури адекватна защита.
- Данни за циркулиращите в момента полеви изолати могат да бъдат намерени в тримесечните доклади на Световната референтна лаборатория.
- Възможно е да изпратите заявка до Европейската комисия за „най-подходящото съвпадение“ преди да научите резултатите от съвпадението на ваксината. Това ще предупреди системата. Въпреки това, заявката за ваксина няма да бъде изпратена до доставчика, докато не бъде известно най-подходящото съвпадение.

б) Брой дози и видове

- Броят на дозите = броят на животните.
- Една доза за говеда = 2 ml (следователно 100 ml = 50 дози за говеда).
- Може да е необходима само еднократна ваксинация поради

- високата ефикасност на ваксината.
- Съгласно договора за доставка на ваксини към Европейската комисия, само ваксина с висока имуногенност ще се доставя за спешна употреба.
 - Тъй като минималният брой изготвени дози е 300 000, ако искането е за по-малко количество, ще има нужда да се договори как ще се процедира с излишните дози, напр. къде ще се съхраняват и кой ще носи отговорност за тях.
 - Няма определени ограничения за правата върху тиража за всяка държава членка.
 - В случай, че няколко държави членки поискат ваксина по едно и също време, ще има обсъждане и решение относно броя на дозите, които трябва да бъдат доставени на всяка от тях в Постоянния комитет по растенията, животните, храните и фуражите. Решението ще се основава на риска, който огнищата представляват за Европейския съюз като цяло или за съседните държави членки. При необходимост може да се поръча още ваксина.
 - Всяка неизползвана ваксина трябва да се съхранява за целия срок на годност.

в) Формулиране

Две ваксини са налични за употреба в Европейския съюз. И двете ваксини са инактивирани.

Едната е *AFTOPUR AlSap*®

- пречистен воден разтвор, съдържащ адюванта алуминиев хидроксид и сапонин;
- подходяща за всички преживни животни;
- притежава висока имуногенност ($\geq 6 \text{ PD}_{50}$);
- тя е едновременно безопасна и ефективна;
- може да се използва както в ендемични, така и при спешни ситуации;

Другата е *AFTOVAXPUR DOE*®

- пречистен разтвор вода в масло във вода (наричан още двойна маслена емулсия или DOE);

- подходяща е както за преживни животни, така и за свине;
- има висока имуногенност ($\geq 6 PD_{50}$);
- тя е едновременно безопасна и ефективна;
- може да се използва както в ендемични, така и в спешни ситуации.

Етикетите трябва да бъдат на един от официалните езици на страната на местоназначение (с изключение на случаите на незабавна доставка – когато етикетирането на английски се счита за достатъчно).

Трябва да бъде поискано Удостоверение за ранно освобождаване. Това свидетелства, че страната получател се съгласява производителът да достави ваксината преди приключване на окончателните тестове за контрол на качеството, съгласно условията за „Използване при спешни случаи“, предписани от европейската Фармакопея 9-то издание, монография 01/2017:0063.

г) Обем на флакона

Докато флакони от 20, 50, 100, 200 и 300 ml могат да бъдат произведени за ваксинация в ендемична ситуация, флакони от 100 и 200 ml се препоръчват за употреба при спешна ваксинация, за да се оптимизират сроковете и условията за доставка.

д) Подробности за доставка

- Летището(та) на дестинация трябва да бъде(ат) посочено(и).
- Най-близкото летище до мястото, където се опаковат и етикетират флаконите с ваксината, е Лион, Франция.
- Трябва да бъдат посочени подходящи лица за контакт (име, адрес и телефонен номер на органа или институцията, където ще бъде доставена ваксината).

е) Спешност на доставката

- В искането трябва да се посочи, дали ваксината се изисква за „незабавна доставка“ или „спешна, но не незабавна доставка“.
- Съгласно договора между Европейската комисия и доставчика на ваксината, „незабавна доставка“ означава, че до 1 милион

дозите ваксина ще бъдат доставени на входа на фабриката в рамките на 6 дни след получаване на уведомлението от доставчика на ваксината.

- В случай на „спешно, но не незабавно доставяне“, до 4 милиона дози ще бъдат доставени в рамките на 7–15 дни.
- И в двата случая ще има допълнително време за въвеждане за полета до летището на местоназначението и/или времето за автомобилен транспорт до мястото за съхранение на ваксините в страната на местоназначение (3 дни).
- Всички дози ще бъдат доставени по едно и също време.

4. Каква информация е необходима в подкрепа на изготвянето на решение за регионализация?

Съгласно член 51 от Директива 2003/85/ЕО на Съвета, след като е взето решение за провеждане на спешна ваксинация, Европейската комисия трябва да бъде уведомена. Уведомлението трябва да посочва най-малко:

- разграничаването на географския район, в който ще се извърши спешната ваксинация;
- вида и възрастта на животните, които ще бъдат ваксинирани;
- продължителността на кампанията за ваксинация;
- специфична забрана за движение на ваксинирани и неваксинирани животни от възприемчиви видове и продукти от тях;
- специалната допълнителна и постоянна (и незаличима) идентификация и специална регистрация на ваксинираните животни (за спазване на член 47, параграф 2 от Директивата);
и
- други въпроси, подходящи за извънредната ситуация.

Тази информация може да бъде изпратена на Европейската комисия отделно от заявката за ваксина. Тя се използва и за изготвяне на решението за регионализация, което да се приложи съгласно член 45 от Директивата. Проектопредложението ще бъде представено на Постоянния комитет по растенията, животните, храните и фуражите (SCoPAFF) за становище.

5. Резюме на процеса

Таблица 13: В резюмиран вид е представен процеса след вземането на решението за ваксинация:

Решение на държава членка да ваксинира	
Искане на държавата членка до ЕК за провеждане на спешна ваксинация	Държавата членка прилага стратегията и изпраща необходимата информация до ЕК съгласно Член 51.
Европейската комисия одобрява заявката и изпраща заявка до доставчика на ваксината.	Европейската комисия приема регионализацията като спешна мярка.
Доставчикът на ваксината изпраща ваксината до предвидената дестинация.	Решението за регионализация е съгласувано от SCoPAFF и одобрено от ЕК.
Начало на ваксинацията	

11. Литературен указател

1. Alexandersen S., Zhang Z., Donaldson A.I. & Garland A.J.M. (2003). – *The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. J. comp. Pathol.*, 129, 1–36. doi: 10.1016/s0021- 9975(03)00041-0.
2. Armitage P. (1971). – *Statistical methods in medical research. Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom.*
3. Barnett P.V., Statham R.J., Vosloo W. & Haydon D.T. (2003). – *Foot-and-mouth disease vaccine potency testing: determination and statistical validation of a model using a serological approach. Vaccine*, 21, 3240–3248. doi: 10.1016/ S0264-410X(03)00219-6.
4. Barteling S.J., Yadin H. & Sutmoller P. (2004). – *Discussion paper on guidelines for control of Foot-and-Mouth Disease (FMD) vaccine quality and performance in the field. Available at: www.fao.org/ag/againfo/commissions/docs/greece04/ App19.pdf.*
5. Bennett S., Woods T., Liyanage W.M. & Smith D.L. (1991). – *A simplified general method for cluster sample surveys of health in developing countries. World Health Stat. Q.*, 44, 98–106.
6. Brocchi E., De Simone F., Bugnetti M., Gamba D. & Capucci L. (1990). – *Application of a monoclonal antibody based competition ELISA to the measurement of anti-FMDV antibodies in animal sera. Report of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (Session of the Research Group of the Standing Technical Committee), Lindholm, Denmark, Appendix 14. FAO, Rome, Italy.*
7. Burton A., Monasch R., Lautenbach B., Gacic-Dobo M., Neill M., Karimov B., Lara Wolfson R., Jones G. & Birmingham M. (2009). – *WHO and UNICEF estimates of national infant immunization coverage: methods and processes. Bull. World Health Organ.*, 87, 535–541. doi: 10.2471/BLT.08.053819.
8. Chen R.T. & Orenstein W.A. (1996). – *Epidemiologic methods in*

immunization programmes. *Epidemiol. Rev.*, 18, 99–117. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a017931.

9. Chénard G., Miedema K., Moonen P., Schrijver R.S. & Dekker A. (2003). – A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology. *J. virol. Methods*, 107, 89–98. doi:

10.1016/S0166-0934(02)00196-9. 10. Cochran W.G. (1977). – *Sampling techniques*, 3rd Ed. Wiley, New York.

11. Doel T.R. (1999). – Optimisation of the immune response to FMD vaccines. *Vaccine*, 17, 1767–1771. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.08.039.

12. Estrada C., Perez A.M. & Thurmond M.C. (2008). – Herd reproduction ratio and time-space analysis of a foot-and-mouth disease epidemic in Peru in 2004. *Transbound. emerg. Dis.*, 55, 284–92. doi: 10.1111/j.1865-1682.2008.01023.x.

13. Farid M.N. & Frerichs R.R. (2007). – Survey version 2.0. Department of Epidemiology, University of California (UCLA). Available online: www.ph.ucla.edu/epi/programs/csurvey2_manual.pdf

14. Fleiss J.L. (1981). – *Statistical methods for rates and proportions*, 2nd Ed. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom.

15. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2012). – *The progressive control pathway for FMD control. Principles, stage descriptions and standards*. Available online: www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/docs/PCP/PCP_en.pdf.

16. Garland A.J. (1999). – Vital elements for the successful control of foot-and-mouth disease by vaccination. *Vaccine*, 17, 1760–1766.

17. Hamblin C., Kitching R.P., Donaldson A.L., Crowther J.R. & Barnett I.T.R. (1987). – Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. 3. Evaluation after infection and vaccination. *Epidemiol. Infect.*, 99, 733–744. doi: 10.1017/S0950268800066590.

18. Haydon D.T., Woolhouse M.E.J. & Kitching R.P. (1997). – *An analysis*

of foot and mouth disease epidemics in the UK. *IMA J. math. appl. Med. Biol.*, 14, 1–9. doi: 10.1093/imammb/14.1.1.

19. Hayes R.J. & Bennett S. (1999). – Simple sample size calculation for cluster randomized trials. *Int. J. Epidemiol.*, 28, 319–326. doi: 10.1093/ije/28.2.319.

20. Henderson R.H. & Sundaresan T. (1982). – Cluster sampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bull. World Health Organ.*, 60, 253–260.

21. Jamal S.M., Bouma A., van den Broek J., Stegeman A., Chenard G. & Dekker A. (2008). – Foot-and-mouth disease vaccine potency testing: the influence of serotype, type of adjuvant, valency, fractionation method, and virus culture on the dose-response curve in cattle. *Vaccine*, 26, 6317–6321. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.09.021.

22. Jamal S.M., Shah S.I., Ali Q., Mehmood A., Afzal M. & Dekker A. (2013). – Proper quality control of formulated foot-and-mouth disease vaccines in countries with prophylactic vaccination is necessary. *Transbound. emerg. Dis.*, 61, 483–489. doi: 10.1111/tbed.12051. 50
Foot and mouth disease vaccination and post-vaccination monitoring. Guidelines

23. Keeling M.J., Woolhouse M.E.J., Shaw D.J., Matthews L., Chase-Topping M., Haydon D.T., Cornell S.J., Kappey J., Wilesmith J. & Grenfell B.T. (2001). – Dynamics of the 2001 UK foot and mouth epidemic: stochastic dispersal in a heterogeneous landscape. *Science*, 294 (5543), 813–817. doi: 10.1126/science.1065973.

24. Kitching R.P. & Salt J.S. (1995). – The interference by maternally-derived antibody with active immunization of farm animals against foot-and-mouth disease. *Br. vet. J.*, 151, 379–389. doi: 10.1016/S0007-1935(95)80127-8.

25. Kish L. (1965). – *Survey sampling*. Wiley, New York.

26. Knight-Jones T.J., Edmond K., Gubbins S. & Paton D.J. (2014a). – *Veterinary and human vaccine evaluation methods*. *Proc. Biol. Sci.*, 281 (1784): 20132839. doi: 10.1098/rspb.2013.2839. PMID: 24741009.

27. Knight-Jones T.J., Bulut A.N., Gubbins S., Stärk K.D., Pfeiffer D.U., Sumption K.J. & Paton D.J. (2014b). Retrospective evaluation of foot-and-mouth disease vaccine effectiveness in Turkey. *Vaccine*, 32 (16), 1848–1855. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.01.071.
28. Knight-Jones T.J., Gubbins S., Bulut A.N., Stärk K.D., Pfeiffer D.U., Sumption K.J. & Paton D.J. (2016). – Mass vaccination, immunity and coverage: modelling population protection against foot-and-mouth disease in Turkish cattle. *Sci. Rep.*, 6, 22121. doi: 10.1038/srep22121.
29. Mackay D., Davidson F. & Rendle T. (1996). – FAO Phase XIV – Standardisation for FMD antibody detection ELISA. In *European Commission for Control of Foot-and-mouth Disease, Session of the Research Group of the Standing Technical Committee, 2–6 September Kibbutz Ma'aleHachamisha, Israel.*
30. Maradei E., La Torre J., Robiolo B., Esteves J., Seki C., Pedemonte A., Iglesias M., D'Aloia R. & Mattion N. (2008). – Updating of the correlation between *lpELISA* titers and protection from virus challenge for the assessment of the potency of polyvalent aphthovirus vaccines in Argentina. *Vaccine*, 26 (51), 6577–6586. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.09.033.
31. Nicholls M.J., Rweyemamu M.M., Okeke E.N., Shidali N.N. & Lamorde A.G. (1983). – The control of foot and mouth disease by vaccination. Considerations for Nigeria. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2 (3), 771–780.
32. Nicholls M.J., Black L., Rweyemamu M.M., Genovese J., Ferrari R., Hammant C.A., de Silva E. & Umehara O. (1984). – The effect of maternally derived antibodies on the response of calves to vaccination against foot and mouth disease. *J. Hyg. (Camb.)*, 92, 105–116. doi: 10.1017/S0022172400064081.
33. Orenstein W.A., Bernier R.H. & Hinman A.R. (1988). – Assessing vaccine efficacy in the field. Further observations. *Epidemiol. Rev.*, 10, 212–241.
34. Paton D.J., Valarcher J.F., Bergmann I., Matlho O.G., Zakharov V.M., Palma E.L. & Thomson G.R. (2005). – Selection of foot and mouth disease vaccine strains – a review. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 24 (3), 981–93.

35. Pay T.W.F. (1984). – *Factors influencing the performance of foot-and-mouth disease vaccines under field conditions*. Academic Press, Orlando, Florida.

36. Pay T.W.F. & Hingley P.J. (1992). – *Foot and mouth disease vaccine potency tests in cattle: the interrelationship of antigen dose, serum neutralizing antibody response and protection from challenge*. *Vaccine*, 10, 699–706. doi: 10.1016/0264-410X(92)90092-X.

37. Robiolo B., La Torre J., Maradei E., Perez Bascochea C., Perez A., Seki C., Smitsaart E., Fondevilla N., Palma E., Goris N., De Clercq K. & Mattion N. (2010). – *Confidence in indirect assessment of foot-and-mouth disease vaccine potency and vaccine matching carried out by liquid phase ELISA and virus neutralization tests*. *Vaccine*, 28, 6235–6241. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.07.012.

38. Sumption K., Domenech J. & Ferrari G. (2012). – *Progressive control of FMD on a global scale*. *Vet. Rec.*, 170, 637–639. doi: 10.1136/vr.e4180.

39. Terpstra C., van Maanen C. & van Bakkum J.G. (1990). – *Endurance of immunity against foot-and-mouth disease in cattle after three consecutive annual vaccinations*. *Res. vet. Sci.*, 49, 236–242.

40. Van Bakkum J.G., Fish R.C. & Nathans I. (1969). – *Immunologic responses in Dutch cattle vaccinated with foot-and-mouth disease vaccines under field conditions: neutralizing antibody responses and immunity to O, A, and C types*. *Am. J. vet. Res.*, 30, 2125–2159.

41. Van Maanen C. & Terpstra C. (1989). – *Comparison of a liquid phase blocking sandwich ELISA and a serum neutralization test to evaluate immunity in potency tests of foot-and-mouth disease vaccines*. *J. Immunol. Methods*, 124, 111–119.

42. Woolhouse M.E.J., Haydon D.T., Pearson A. & Kitching R.P. (1996). – *Failure of vaccination to prevent outbreaks of foot and mouth disease*. *Epidemiol. Infect.*, 116, 363–371. doi: 10.1017/S0950268800052699.

43. World Organisation for Animal Health (OIE) (2012). – *The Global Foot and Mouth Disease Control Strategy. Strengthening animal health*

systems through improved control of major diseases. Available at: www.oie.int/doc/ged/D11886.PDF.

44. World Organisation for Animal Health (OIE) (2014). – *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, 2014. Chapter 2.1.5. Foot-and-mouth disease. OIE, Paris. Available at: www.oie.int/manual-of-diagnostic-tests-and-vaccines-for-terrestrial-animals/.

45. World Organisation for Animal Health (OIE) (2014). – *Terrestrial Animal Health Code*. Available at: www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/.

46. Георгиев, Г., Оценка на риска от проникване на вируса на шапа на територията на Р.България, Научно становище, Бюлетин ЦОРХВ, 2020.

47. *Animal Health Australia*. 2011. *Nationally Agreed SOPs*. In: *Animal Health Australia* [online]. Braddon ACT, Australia. [Cited 1 January 2021]. <https://animalhealthaustralia.com.au/nationally-agreed-standard-operating-procedures/>

48. Department of Environment, Food and Rural Affairs (DEFRA). 2010. *Vaccination as a control tool for exotic diseases - key considerations* [online]. London, UK. [Cited 1 January 2021]. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/183149/vaccination-control-tool.pdf

49. European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EuFMD). 2021. *Planning risk communication on foot-and-mouth disease: a guide* [online]. Rome, FAO. [Cited 6 July 2021].

<http://www.fao.org/3/cb5473en/cb5473en.pdf>

50. European Community. 2003. *Council Directive 2003/85/EC on Community measures for the control of foot-and-mouth disease repealing Directive 85/511/EEC and Decisions 89/531/EEC and 91/665/EEC and amending Directive 92/46/EEC (Articles 49 – 58)*. In: *EUR-Lex* [online]. Luxembourg, Luxembourg. [Cited 1 January 2021]. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32003L0085>

51. *European Community. 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'). In: EUR-Lex [online]. Luxembourg, Luxembourg. [Cited 1 January 2021]. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L_.2016.084.01.0001.01.ENG*
52. *European Community. 2020. Commission Delegated Regulation (EU) 2020/687 as regards rules for prevention and control of certain listed diseases. In: EUR-Lex [online]. Luxembourg, Luxembourg. [Cited 1 January 2021]. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L_.2020.174.01.0064.01.ENG&toc=OJ%3AL%3A2020%3A174%3*
53. *ATOC FAO and OIE. 2016. Foot-and-mouth disease vaccination and post-vaccination monitoring: guidelines [online]. [Cited 1 January 2021]. <https://www.fao.org/3/i5975e/i5975e.pdf>*

Настоящото ръководство има за цел да подпомогне ветеринарните специалисти от БАБХ, ангажирани със здравеопазване на животните. То е изготвено на базата на световния и българския опит в превенцията и борбата с шапа и включва ключовите елементи, необходими за разработването на план за прилагане на спешна ваксинация. Законите изисквания, цитирани в ръководството, се отнасят до действащото законодателство на Европейския съюз (ЕС) и на Р. България.

Това ръководство е посветено на проф. д-р Георги Георгиев, д.в.м.н, с благодарност към професионализма и новаторското мислене, човек, държащ на истината и смелите действия. Човек с голямо сърце.

Проф. Георгиев посвети над 40 години от живота си на ветеринарната медицина, наука и практика с акцент върху контрола и профилактиката на заразните заболявания при животните, вирусолог с ненадминат опит и неопровержима експертиза, „любопитен човек“ с отдаденост и непрестанно желание за трупане на още и още нови знания.

Чест и почитание, Професоре, с огромна благодарност за знанието и напътствията!



**Център за оценка на риска по хранителната
верига, МЗХГ**

<https://corhv.government.bg/>





**Център за оценка на риска по хранителната
верига, МЗХГ**

<https://corhv.government.bg/>

