



## НАУЧНО СТАНОВИЩЕ

### Оценка на ефективността на ваксиниране на прицелни животни (говеда, овце и кози) като мярка за контрол и ерадикация на заболяването Ку-треска

Ку-треската се очерта като важен проблем за общественото здраве в Кралство Нидерландия. Епизоотията започна през май 2007 г. с първите съобщения за огнище за поява на заболяването в стадо от кози в провинция Северен Брабант (Schimmer et al., 2010). Впоследствие епидемични взривове с безпрецедентни размери се случиха при хора и след един период от 5 години положението бе овладяно. От гледна точка на общественото здраве и икономически последици Ку-треската е зоонозно заболяване с висока обществена значимост, чиито етиологичен агент *Coxiella burnetii* е включен в група В на списъка с потенциални оръжия на ОИЕ.

**Цел на оценката:** Във връзка с констатираните случаи на Ку-треска в редица области на България (сред които, собственици на ферми, ветеринарни лекари и персонал) и установени положителни стада от едри и дребни преживни животни, БАБХ възложи на ЦОРХВ да извърши научна оценка на възможностите за приложение на ваксина срещу *Coxiella burnetii* за контрол и ерадикация на заболяването. Данните от становището ще бъдат използвани при разработването на Националната програма за контрол на заразните заболявания и зоонозите за периода 2022-2024г.

#### Въведение

Ку-треската (на английски: Q-fever) е природно-огнищно заболяване, което принадлежи към групата на зооантропонозите, т.е. засяга не само животни, но и хора. Причинителят е облигатно вътреклетъчната бактерия *Coxiella burnetii*, която може да образува малка, дебела и силно устойчива спорообразна форма. *Coxiella burnetii* притежава значителна устойчивост във външната среда, както и от въздействието на високи температури. Така например, пастьоризацията на млякото при 72 °C за 20 секунди не я унищожава. Дезинфектанти като 5% формалин и 5% хлорна вар унищожават коксиелата, но основите не ѝ действат.

Това заболяване, описано за първи път сред персонала в клиники в Австралия, сега е признато за ендемично в целия свят, с изключение на Нова Зеландия. Въпреки че **Ку-треската при хората** в повече от 60% от случаите протича асимптомно, в някои случаи може да се прояви или като остро или като хронично заболяване. Острото заболяване протича предимно като грипозен синдром с фебрилитет, главоболие, миалгия, повръщане и диария и могат да възникнат тежки усложнения като пневмония или хепатит. При хроничното протичане най-честата проява е ендокардитът, особено при пациенти с предишна валвулопатия и *C. burnetii* често участва в синдрома на хроничната умора. Бременните жени са особено податливи на инфекции с *C. burnetii*, като може да

се стигне до преждевременно раждане или аборти. Смъртните случаи при хората са рядкост – под 2%, а след преболедуване организъмът изгражда продължителен имунитет.

От 2007 г. насам Ку-треската се превърна във **важен проблем за общественото здраве** в няколко части на Европа, особено в Нидерландия, където през 2007 г., 2008 г. и 2009 г. се наблюдава рязко нарастване на броя на случаите при хора (над 4,000 души заболели) и е установена връзка между тях и ферми с дребни преживни животни (млечно стадо кози), където са наблюдавани аборти поради Ку-треска.

Ку-треската има **природна огнищност**, като кърлежите са едни от главните резервоари на *C. burnetii* в природата и имат важна роля в поддържането на огнищата при селскостопанските животни. Носителство на коксиелата е доказано в 62 вида кърлежи от семействата *Ixodidae*, *Argasidae* и *Gamasidae*. Сред най-честите преносители на *C. burnetii*, се посочват *Rh. sanguineus*, *H. plumbeum*, *Rh. turanicum*, *I. ricinus*, *H. marginatum*, *H. punctata* и др. За иксодовите кърлежи е установено пожизнено съхраняване на възбудителя.

Предаването на заразата може да се извърши хоризонтално от животно на животно и без посредничеството на кърлежи. **Преживните животни (най-вече говедата, овците и козите) са признати за основен източник на инфекция за хората.** Голямо значение за поддържане на огнищата имат носителството, при което през известни интервали от време и под влияние на определени фактори инфекцията се изостря и заразените животни започват да отделят инфекциозния агент. Затова тук особено опасен става периодът на раждането. *C. burnetii* се отделя в големи количества в околната среда главно при раждането или аборта с околоплодните течности, плацентата, маточните изтечения, но може да се отделя от животните чрез вагиналната слуз, млякото, фекалиите, урината и спермата (овците излъчват бактерията най-вече във фекалиите и вагиналната слуз, докато козите и говедата излъчват най-вече в млякото). Допълнително под влияние на раждането инфекцията се активира и възбудителят се отделя с фекалиите, урината, млякото, със слюнката и носните секрети в голямо количество и продължително време. При преживните животни инфекцията с *C. burnetii* води главно до репродуктивни нарушения като аборти, мъртво раждане, раждане на слаби телета, метрит и безплодие, със свързаното негативно икономическо въздействие върху фермите.

*C. burnetii* оцелява много добре в околната среда и замърсява аерозоли и прах. Тези заразени частици са основният път на заразяване както за животните, така и за хората.

**Диви животни** също могат да са резервоар на заразата. Това са различни видове бозайници като зайци, лисици, язовци, лалугери и много видове птици. При тях заболяването протича предимно като скрита инфекция.

**Хората** се заразяват главно чрез вдишване на замърсени с извънклетъчни форми на *C. burnetii* аерозоли или прах, съдържащ *C. burnetii*, отделен от заразени животни, а също и за неимунните животни, особено когато условията на околната среда са благоприятни за разпространението на бактерии. Орално предаване на бактериите (чрез млечни продукти), въпреки че се счита за по-рядко срещано, също се съобщава в литературата, както и възможността за вертикално и полово предаване.

**Поради важността му както за здравето на животните, така и за общественото здраве, контролът на тази инфекция е от решаващо значение. Следователно, всяка контролна мярка, водеща до намаляване на разпространението на животни излъчители и излъчения в околната среда бактериален товар е ключов момент за ограничаване, както на разпространението на инфекцията при преживните животни, така и на зоонозния риск.**

В днешно време **медицинските мерки** се състоят в използването на антибиотици и/или ваксини за контрол на разпространението на бактерията в селскостопанските животни. Понастоящем в заразените стада говеда във Франция мерките за контрол срещу Ку-треска се състоят от екологични мерки като унищожаване на плаценти или дезинфекция на местата на раждане, антибиотично лечение като инжекции с окситетрациклин през последния месец на бременността и ваксинация. **Според Rodolakis et al., ваксинацията ще бъде ефективно средство за контрол на болестта.**

Антибиотиците (например тетрациклини) намаляват честотата на абортите, но не предотвратяват излъчването на *C. burnetii* от животните.

В момента на световния пазар са налични две **ваксини** срещу *C. burnetii* (Coxevac, фаза I, CEVA Santé Animale и Chlamyvac FQ, фаза II, MERIAL)

В съвременните научни проучвания се застъпва тезата, че ефикасността на ваксините срещу Ку-треска при контрола на инфекцията варира главно в зависимост от техния състав, особено от използваната фаза *C. burnetii* (фаза I, вирулентна фаза с пълен липополизахарид (LPS), или фаза II, авирулентна фаза с непълен LPS). Като общо правило ваксините, приготвени с фаза I, са признати за по-ефикасни и изграждащи защита от тези, приготвени от фаза II. По този начин, за да се защитят рисковите групи хора като работници в кланици, ветеринарни лекари или фермери, понастоящем в Австралия се прилага ваксина фаза I.

Неотдавнашно проучване при **кози съобщава, че употребата на фаза I ваксина** при незаразени и след това инфектирани животни е свързана с много силно намаляване на честотата на абортите и вагиналното излъчване на бактерията и с липсата на отделяне в млякото (в сравнение с неваксинирани кози и тези, ваксинирани с ваксина фаза II). Съобщава се, че при **дойните крави** употребата на ваксина фаза II (в комбинация с тетрациклини) намалява, но не и спира излъчтелството на *Coxiella*, докато ваксината фаза I е свързана с намаляването, дори прекратяването на излъчването. Тези проучвания обаче са проведени, докато PCR техниката, която сега е призната за най-чувствителния метод, все още не е била на разположение за откриване на *Coxiella*. Освен това при тези проучвания изследваните говеда са били извадени от стадото, ваксинирани и след това върнати в заразени стада, което рядко се среща при полеви условия. И накрая, дизайнът на тези проучвания не позволява никаква отделна оценка на, от една страна, предотвратяването на излъчтелството при възприемчиви животни, след ваксинация, и от друга страна, намаляването на излъчтелството при крави излъчители, тъй като първоначалният статус на животните (чувствителни спрямо излъчители) не е определен. **Преди 2008 г. няма налично научно проучване, насочено към оценка на ефикасността на ваксинацията при говеда с известен статус на инфекция по време на ваксинация в заразени млечни стада (най-честата ситуация за прилагане на ваксинацията в полеви условия), с фаза I ваксина срещу *C. burnetii*.**<sup>1</sup>

## ВАКСИНАЦИЯ НА ГОВЕДА

Научно проучване проведено през 2008 г.<sup>2</sup> оценява ефикасността на **моновалентна инактивирана ваксина, съдържаща фаза I *Coxiella burnetii***, за да се предотврати заразяването с *Coxiella* и излъчтелството при чувствителни (т.е. незаразени) **млечни**

<sup>1</sup> Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine Raphaël Guatteo,\*, Henri Seegers, Alain Joly, Francois Beaudéau

<sup>2</sup> Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine Raphaël Guatteo,\*, Henri Seegers, Alain Joly, Francois Beaudéau

**крави в заразени стада**, в сравнение с плацебо, както и дали прилагането на тази ваксина е свързано с намаляване или на броя на излъчителите, или на излъчения бактериален товар. В това проучване, проведено в няколко заразени стада, **първоначалното определяне на статуса на избраните животни** дава възможност да се оцени поотделно предполагаемата ефикасност на ваксината, както за предотвратяване на излъчването на *Coxiella*, така и за намаляване на излъчения бактериален товар.

Общо 336 млечни крави и юници (бременни и небременни) от шест спонтанно заразени стада са проследени за период от 1 година. Преди лечение (т.е. ваксинация или плацебо), състоянието на инфекция с *C. burnetii* на кравите се определя въз основа на резултатите от PCR върху мляко, вагинална слуз и фекалии, и серологичен анализ, извършен с интервал от 2 седмици. Кравата се счита за чувствителна (т.е. неинфектирана и възприемчива), когато всички резултати са отрицателни, и се счита за заразна в противен случай.

Почти всички юници са били чувствителни/възприемчиви (незаразени) преди лечението. Установява се, че при ваксинираните **небременни крави/юници има пет пъти по-малка вероятност да станат излъчители, отколкото животните, получили плацебо.**

**За животните, ваксинирани по време на бременност, вероятността да станат излъчители е подобна като тази при животните, получавали плацебо.**

Тези резултати подчертават стойността на прилагането на ваксинация, ако е възможно, в незаразени стада. При заразените стада ваксинацията трябва да се прилага при почти всички предполагаемо възприемчиви животни, т.е. поне юници.

Ваксинацията на млечните крави трябва да се извършва, когато вътре в стадото серопреваленсът е нисък, т.е. в стада, където инфекцията все още не се е разпространила широко.

Въпреки това, няма значително влияние на ваксинацията в сравнение с плацебо тестът върху излъчения бактериален товар, независимо от първоначалния статус на животните.

Тези открития при говедата потвърждават високия превантивен ефект на ваксинацията върху вероятността да се превърнат в излъчители, наблюдаван преди това при кози, които са получили същия продукт и след това са били заразени.

Животните, които са ваксинирани по време на бременност, показват вероятност да се превърнат в излъчители, и сходни резултати с тази при животните, получили плацебо. Бременността оказва неблагоприятен ефект върху имунния отговор след ваксинация. Всъщност успешната бременност изисква имунната система на майката да толерира наличието на полуалогенната присадка<sup>3</sup>, каквато се явява плодът. Хормоналните промени по време на бременност са отговорни за имунодепресията, особено чрез инхибиране на имунната реакция от тип Т-хелпер. Th-1 тип имунния отговор, като производството на интерферон гама (IFN-), за който е известно, че е ефективен за ограничаване на размножаването на *Coxiella*, по време на бременност също е подтиснат, което би могло да подобри оцеляването и размножаването на бактериите.

Освен това, независимо от ваксинацията, която са получили, повече от 50% от тези животни продължават да излъчват *Coxiella*, само в млякото, с висок титър.

**Тези резултати потвърждават предишни констатации за неуспеха на ваксини фаза I за предотвратяване или намаляване на излъчването на *C. burnetii* при животни, за които е известно, че са били спонтанно заразени преди ваксинацията.**

<sup>3</sup> Алогенна трансплантация – между генетично различни индивиди от същия биологичен вид

В заключение, високият защитен ефект на ваксинацията спрямо риска от излъчителство при чувствителни животни засилва нейната стойност в ограничаването на разпространението на бактерията в стадото и по този начин свързания зоонозен риск. В идеалния случай тази ваксина трябва да се използва при неинфектирани стада. Поради доста систематичния възприемчив (83 от 87) статус на изследваните юници в настоящото проучване, ваксинирането на поне всички юници преди първото им заплождане е особено препоръчително. При заразените стада ваксинацията на млечни крави е показана, когато вътрестадното серопреобладаване (серопреваленс) е ниско, т.е. при стада, в които инфекцията все още не се е разпространила широко. Липсата на каквото и да е намаляване на излъчения бактериален товар от заразени животни при ваксинация, както и известната висока устойчивост на *C. burnetii* в околната среда подчертава необходимостта от комбиниране на хигиенни и медицински мерки за по-нататъшно намаляване на инфекциозния товар в заразените стада.<sup>4</sup>

## ВАКСИНАЦИОННА СТРАТЕГИЯ

Действително е доказано, че фаза I ваксина предотвратява абортите и драстично намалява честотата на отделяне на бактерии в млякото, вагиналните секрети и фекалиите. Освен това, според Guatteo et al., възприемчивите говеда, които са били ваксинирани, когато не са били бременни, са имали пет пъти по-малка вероятност да станат излъчители от животно, получавало плацебо.

По този начин във фермите често се препоръчва ваксинация при заразени стада след появата на аборти поради Ку-треска. Въпреки това, проучванията за оценка на ефикасността на ваксинацията при преживните животни се провеждат в експериментални условия или за ограничен период от време и те оценяват ефекта на ваксината най-вече на индивидуално ниво. Следователно е трудно да се екстраполират тези резултати в случая на ваксинация на цяло стадо за няколко години.

Освен това могат да се прилагат различни **стратегии за ваксинация**: продължителността на програмата за ваксинация, както и категорията на ваксинираните животни (например цялото стадо или само юниците).

За да се **оцени дългосрочната ефективност на тези различни стратегии за намаляване на разпространението на инфекцията или на бактериалното натоварване в околната среда**, полевите проучвания не са оптимални: обикновено няма налична референтна ситуация (без стратегия за контрол) и трябва да се извършват дългосрочни наблюдения, което е много скъпо и дори невъзможно. По тази причина **оценката на дългосрочната ефективност на ваксинирането е направена чрез моделиране** (в наши дни математическите модели са един от най-ефективните инструменти за сравняване на мерките за контрол, както върху инфекциозни заболявания при хора, така и при животни), тъй като моделирането предоставя средства за сравняване на ефективността на различните потенциални стратегии за управление.

Чрез моделно проучване е оценена сравнителната ефективност на няколко стратегии за ваксиниране срещу *C. burnetii* във **вече заразено стадо млечни говеда**. Критериите, които се използват за оценка на ефикасността, са промените в разпространението на излъчителите, излъченият бактериален товар в околната среда, броят на абортите, както и степента на изчезване на инфекцията.

<sup>4</sup> Prevention of *Coxiella burnetii* shedding in infected dairy herds using a phase I *C. burnetii* inactivated vaccine; Authors Raphaël Guatteo a,b Henri Seegers a,b Alain Joly, François Beaudeau a,b; Available online 30 June 2008. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.06.023>; Vaccine - Volume 26, Issue 34, 12 August 2008, Pages 4320-4328; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X08007603?via%3Dihub>;

Ваксинацията, която се използва широко в тази област беше идентифицирана като дългосрочен вариант за контрол на инфекции с *C. burnetii* от Европейския орган по безопасност на храните (ЕОБХ)<sup>5</sup>. **Наистина е доказано, че ваксинацията с фаза I ваксина при говеда потиска отделянето на причинителя в млякото, плацентата, маточната течност, вагината и коластрата.**

**Rousset et al., смятат, че ваксината не е в състояние да предотврати заразяване при яретата, нито да изчисти инфекцията при заразени кози, но ефективно намалява нивото на излъчителство в силно заразено стадо кози.**

**Hogerwerf и сътр. също така установи, че както разпространението на излъчители, така и излъченият бактериален товар чрез маточните секрети, вагиналните изтечения и млякото са намалени при ваксинираните млечни кози.**

**Изследваните стратегии за ваксинация са:**

**(1) ваксиниране на цялото стадо в продължение на 10 години** – всички крави са ваксинирани и всички юници, влизащи в стадото, се считат за S<sub>Ve</sub> (податливи и ваксинирани, когато не са бременни). В допълнение, всички животни се реваксинират всяка година: няма загуба на имунитет и не е възможен преход от състоянията на V<sub>e</sub> към състоянията, различни от V<sub>e</sub>.

**(2) ваксиниране на цялото стадо в продължение на 3 години** – в края на този 3-годишен период са проучени две предположения относно развитието на имунитета:

▪ Сценарий 2А: имунитетът продължава една година. Една година след края на ваксинационния период, животните V<sub>e</sub> губят имунитета си и се преместват в нееквивалентни състояния.

▪ Сценарий 2Б: имунитет през целия живот. След периода на ваксинация животните V<sub>e</sub> не губят имунитета си и продължават да се движат в рамките на състоянията V<sub>e</sub> до края на живота си.

**(3) ваксиниране само на юниците за 10 години** – в началото на симулацията кравите не са ваксинирани. Те остават в non V<sub>e</sub> състояние и прогресират през инфекциозния процес. Предполага се, че само юниците, които пристигат след това, са ваксинирани по ефективен начин. Тези животни са в състояние S<sub>Ve</sub>, когато влизат в млечното стадо. Впоследствие всички по-рано ваксинирани животни се реваксинират всяка година: няма загуба на имунитет и няма преход от състоянията V<sub>e</sub> към съответните състояния различни от V<sub>e</sub>.

**Сценарий 1 се счита за най-ефективната стратегия за контрол.** Всъщност и трите стратегии за ваксинация намаляват разпространението на излъчители, излъченият бактериален товар в околната среда и броя на абортите. Ефективността им обаче не е еквивалентна. Тъй като инфекцията рядко се унищожава през първите години на ваксинация, ранното спиране на ваксинацията (сценарий 2) би било неефективно в дългосрочен план.

Краткосрочният ефект върху динамиката на инфекцията зависи от продължителността на имунитета на ефективно ваксинирани крави. Според Rodolakis et al., в заразени стада, повече от 80% от ваксинираните крави все още са имунни маркери една година след ваксинацията. В същото време обаче по-малко от 60% от ваксинираните юници все още са положителни на кожен тест. Това означава, че

<sup>5</sup> EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on Q Fever. EFSA Journal 2010; 8(5):1595. [114 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1595. Available online: www.efsa.europa.eu

имунитетът трябва да продължи между една година (сценарий 2А) и целия живот (сценарий 2Б). **В този контекст, увеличаването на разпространението на излъчители, излъчения бактериален товар в околната среда и броят на абортите трябва да се наблюдават през първите месеци след прекратяване на ваксинацията.** Независимо от това, инфекцията се разпространява отново. **Преди да се спре програмата за ваксинация във фермата, е важно да се определи присъствието или отсъствие на *C. burnetii* в стадото.** Диагностичните тестове на ниво стадо (напр. PCR в мляко) могат да бъдат полезни, въпреки че са несвършени.

Когато годишно се **ваксинират само юници (сценарий 3)**, намаляването на излъчителите, на излъчения бактериален товар в околната среда и броят на абортите е по-забавено, отколкото когато всички животни са ваксинирани (сценарий 1): отнема между 9 и 10 допълнителни месеца, за да се достигне същото ниво на разпространение на излъчители и излъчен бактериален товар в околната среда, въпреки че двете стратегии се различават само в първоначалното действие на програмата за контрол. Степента на изчезване на инфекцията е висока и за двата сценария.

*По този начин, въпреки че сценарий 1 изглежда най-добрата стратегия от епидемиологична гледна точка, разликата между сценарии 1 и 3 не е толкова изразена и анализът на разходите и ползите би бил полезен за по-добро сравнение на относителната полза на тези две стратегии.*

Следователно, ако ваксината ще се използва за ликвидиране на *C. burnetii* **в заразени ферми**, трябва да се определят точно, както възприемчивостта, така и заразността на ваксинираните животни. Според Rousset et al., показва се, че **най-ниското ниво на отделяне на *C. burnetii* във вагинални тампони е по-често при ваксинирани, отколкото при неваксинирани кози.**

Необходими са обаче и допълнителни проучвания, за да се определи дали се наблюдава намаляване на инфекциозността за всички ваксинирани животни или само за животните, ваксинирани, когато не са бременни и все още не са били заразени, и да се определи количествено това намаляване във всички пътища на излъчителство.

Трябва да се отбележи, че степента на изчезване е силно повлияна от ефекта на ваксинацията върху чувствителността, нивото на излъчване и смъртността на бактерията в околната среда. След това този процент на изчезване трябва да се тълкува с повишено внимание и да се използва за сравняване на различни стратегии за контрол в рамките на модела. Поведението на скоростта на изчезване обаче предполага, че е необходимо време, за да се освободи стадото от *C. burnetii*.

**Този модел е разработен за млечни стада говеда и резултатите, представени тук, не могат да бъдат направо обобщени за дребни преживни животни.** Основната разлика е управлението на стадото при дребните преживни. Типичният размер на млечно стадо дребни преживни често е много по-висок от типичния размер на млечно стадо говеда и еструсът обикновено се синхронизира. Следователно, начинът за представяне на демографията в модела трябва да бъде адаптиран, когато представлява разпространението на *C. burnetii* при дребни преживни животни.

Освен това характеристиките на излъчване и клиничните прояви могат да бъдат различни при различните видове: според Rodolakis et al. е установено, че овцете излъчват бактерията най-вече във фекалиите и вагиналната слуз, докато козите излъчват най-вече в млякото. Arricau-Bouvery et al. съобщава, че високият брой на абортите е рядък, с изключение на някои стада кози.

**В заключение, въпреки че е необходим допълнителен анализ на разходите и ползите, отчитащ икономическите аспекти на програмите за контрол, за да се създаде оптимална стратегия за контрол, подходът за моделиране показва, че**

дългосрочната годишна ваксинация ще намали риска от инфекция във ваксинираните стада говеда.<sup>6</sup>

Друго научно проучване върху резултатите от 2-годишна програма за ваксинация с инактивирана фаза I ваксина в испанско млечно стадо говеда, естествено заразено с *C. burnetii* стига до заключението, че при липса на каквито и да било промени в биосигурността, общото намаляване на инфекцията с *C. burnetii* при животни до 1,2% излъчватели с млякото и намаленото замърсяване на околната среда, установено в края на проучването, се приписва на ефектите от ваксинацията, като междуременно е извършено заедно с постепенно отстраняване на излъчителите. **Основната препоръка е, че ваксинацията трябва да бъде планирана като средносрочна и дългосрочна стратегия за потискане на рисковете от повторна инфекция.** По време на проучването са ваксинирани телетата на възраст над 3 месеца и небременните юници и крави и впоследствие ежесечно са ваксинирани наскоро отелвани крави и телета, които достигат възраст от 3 месеца. Годишни бустер дози са поставяни и на ваксинирани предишната година животни. Ефективността на ваксината е оценявана по отношение на нивото на излъчителство на *C. burnetii* чрез мляко и маточни течности и замърсяване на околната среда чрез полимеразна верижна реакция (PCR). Отчетените **резултати сочат, че** процентът на животните излъчители на бактерия чрез маточни течности и мляко постепенно намалява, а натоварването с ДНК на *C. burnetii* в проби от сборно мляко е ниско в края на проучването. Средният процент на сероконверсия при все още неваксинирани животни, които са действали като контролна група, е 8,6% през първата година и 0% през втората година. ДНК на *C. burnetii* е намерена в проби от аерозоли и прах, взети в района на отелването, само в началото на изследването, докато пробите от суспензия остават положителни за PCR на *C. burnetii* най-малко 18 месеца.<sup>7</sup>

## ВАКСИНАЦИЯ ПРИ ОВЦЕ И КОЗИ

Друго научно изследване проучва значението за общественото здраве на ваксинацията срещу излъчителството на *C. burnetii* от **овце и кози** с помощта на систематичен преглед и мета-анализ, за да се предоставят доказателства за определяне на политиката за предотвратяване на потенциално разпространение на зоонози. От обединения анализ, учените излизат със заключението, че инактивирана фаза I ваксина значително намалява риска от излъчване с маточните секрети (RR = 0,10; 95% CI 0,05-0,20) при предварително сенсibiliзирани кози. Отделни проучвания съобщават за значително намаляване на риска за излъчване с млякото (RR = 0,03; 95% CI 0,01-0,26), вагиналните секрети (RR = 0,40; 95% CI 0,22-0,75) и изпражненията (RR = 0,79; 95% CI 0,63-0,97) от наивни кози. Събраните средни нива на бактериалния товар, отделен от плацентата [средна разлика (MD = -5,24 Log10; 95% CI -6,75 до -3,7)] и вагиналните секрети (MD = -1,78 Log10; 95% CI -2,19 до -1,38) са значително намалени при ваксинирани наивни кози в сравнение с контролите. Излъчителството през всички други пътища от ваксинирани кози не се различава значително от излъчителството от контролните кози. Не е установен ефект от ваксинацията върху риска от излъчителство или средното ниво на излъчване при ваксинирани овце в сравнение с контролните овце.

<sup>6</sup> Courcoul, A., Hogerwerf, L., Klinkenberg, D. et al. Modelling effectiveness of herd level vaccination against Q fever in dairy cattle. Vet Res 42,68 (2011). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-68>; <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-42-68>

<sup>7</sup> Piñero, Alvaro & Barandika, Jesus & Hurtado, Ana & García-Pérez, Ana. (2014). Progression of Coxiella burnetii infection after implementing a two-year vaccination program in a naturally infected dairy cattle herd. Tierärztliche Umschau. 69. 522-+. PMID: 25053249 PMCID: PMC4115166 DOI: 10.1186/s13028-014-0047-1; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25053249/>



Заклученията от това проучване се основават на ограничен обем данни с променлив риск от системна грешка.<sup>8</sup>

Научно проучване при **кози** ваксинирани два месеца преди чифтосването, подкожно срещу *Coxiella burnetii* с инактивирана фаза I ваксина и кози ваксинирани с инактивирана фаза II *Coxiella*, смесена с *Chlamydophila abortus* ваксина, и след това заразени с *Coxiella burnetii* сочи, че:

- Ваксината от фаза I е ефективна и драстично намалява, както абортите, така и отделянето на бактерии в млякото, вагиналните секрети и изпражненията;
- За разлика от това, ваксината фаза II не повлиява хода на заболяването или екскрецията.<sup>9</sup>

Ваксинирането на стада от **млечни овце** се счита за един от най-добрите варианти за контролиране на инфекцията с *Coxiella burnetii*. Ефикасността на фаза I ваксина е изследвана в продължение на 4 години в стадо овце с потвърдена инфекция с *C. burnetii*.

Излъчителство не е установено при овцете и едногодишните агнета през последните 2 години, но *C. burnetii* все още се запазва в околната среда.<sup>10</sup>

Друго научно изследване, след най-голямата епидемия от човешка Ку-треска през 2006 и 2009 г., в Холандия, с цел да се анализира динамиката на Ку-треската в стадата кози и да се проучи ефекта от мерките за контрол, разработи модел на разпространение на *Coxiella burnetii* в млечни стада кози, като основната цел на мерките за контрол, предприети в тези стада, е намаляването на експозицията на хора. С този индивидуален стохастичен модел са оценени шест стратегии за контрол и три стила на управление на стадото („Всяка година бременна“, „На всеки две години бременна“ и „Първи две години бременност“) и е проучено коя стратегия води до по-ниско разпространение на Ку-треска и/или до изчезване на болестта в стадото кози.

#### **Резултатите от епидемиологичния модел са:**

(1) Ваксинацията е ефективна за бързо намаляване на разпространението (преваленса) в стадото млечни кози.

(2) При отчитане на средното време до изчезване на инфекцията и инфекциозния товар в козето стадо, най-ефективната стратегия за контрол е превантивната годишна ваксинация, последвана от реактивните стратегии за ваксиниране след аборт или след положително тестване на проби от сборно мляко.

(3) Тъй като *C. burnetii* в прахта от околната среда може да създаде риск за общественото здраве, се контролира кумулативното количество *C. burnetii*, излъчено в околната среда (от въвеждането на болестта до изчезването на инфекцията). Използвайки този критерий, същите стратегии за контрол са ефективни, както когато се основават на времето до изчезване и инфекциозния натиск (виж. 2).

(4) Тъй като по-голямата част от отделянето на патогени се случва по време на раждане и аборт, бракуването на бременни животни след аборт води до бързо намаляване на количеството *C. burnetii*, излъчено в околната среда. Въпреки това,

<sup>8</sup> A systematic review and meta-analysis of phase I inactivated vaccines to reduce shedding of *Coxiella burnetii* from sheep and goats from routes of public health importance; T J O'Neill, J M Sargeant, Z Poljak; *Zoonoses Public Health* . 2014 Dec;61(8):519-33. doi: 10.1111/zph.12086. Epub 2013 Nov 19. PMID: 24251777 DOI: 10.1111/zph.12086

<sup>9</sup> (Effect of vaccination with phase I and phase II *Coxiella burnetii* vaccines in pregnant goats Author links open overlay panel Nathalie Arricau-Bowery, Arnel Souriaua, Christelle Bodiera, Philippe Dufourb, Elodie Roussetb, Annie Rodolakisa, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X05004421?via%3Dihub>)

<sup>10</sup> Four-Year Evaluation of the Effect of Vaccination against *Coxiella burnetii* on Reduction of Animal Infection and Environmental Contamination in a Naturally Infected Dairy Sheep Flock; Ianire Astobiza, Jesu's F. Barandika, Francisco Ruiz-Fons, Ana Hurtado, Ine's Povedano, Ramo'n A. Juste, and Ana L. Garcia-Pe'rez

излъчването не се предотвратява напълно и Ку-треската няма да бъде унищожена в стадото чрез тази мярка.

(5) Методът за търсене и унищожаване (т.е. изследване и бракуване) чрез PCR на индивидуални проби от мляко с вероятност за откриване 50% и бракуването на заразените кози – които отделят периодично *C. burnetii* – няма да доведе до унищожаване на Ку-треската в стадото. Тази стратегия за контрол е най-малко ефективна от шестте оценени стратегии.

**Въпреки някои ограничения на модела, резултатите показват, че само ваксинацията е в състояние да предотврати и контролира огнищата на Ку-треска във фермите за млечни кози. Поради това превантивната ваксинация трябва да се разглежда като постоянна мярка за контрол.**

### **Параметри на ваксинация**

Ваксинирането на наивни кози предизвиква антителин отговор след 3 седмици (Rousset et al., 2009b). Ваксинацията не предотвратява инфектирането и не изчиства инфекцията при заразените кози (Rousset et al., 2009b). По-голямата част от излъчването на патогени са свързани с раждането, поради което трябва да се предотврати заразяването на бременните животни. Когато животните се ваксинират преди да са се заразили, повечето аборти се предотвратяват (Arricau-Bouvery et al., 2005). Констатациите на Hogerwerf et al. (2011) предполагат, че ваксинацията е по-защитна при нераждалите още животни, отколкото при раждалите.

Ваксинацията предизвиква цялостно намаляване на нивата на излъчителство и най-голямото намаление се установява при нераждалите животни (de Cremoux et al., 2012). По този начин преди първата бременност чувствителните кози трябва да бъдат ваксинирани. На практика това означава, че младите нераждали животни трябва да бъдат ваксинирани преди да забременеят. **Един от производители на ваксина (Coxevac) препоръчва ваксинация след 3-месечна възраст (след периода, необходим за изграждане на активен имунитет) и 3 седмици преди чифтосването (ЕМА, 2012).** При полеви условия неваксинираните млади кози имат по-високо бактериално излъчване в маточната течност в сравнение с ваксинираните млади кози (OR от 1 до 0,005), а при сравняване на неваксинирани стари кози с ваксинирани стари кози OR се подобрява от 0,44 до 0,03 (Hogerwerf et al., 2011). При експериментални условия предизвиканото от ваксината намаляване на бактериалното излъчване е приблизително милион пъти (Arricau-Bouvery et al., 2005). По този начин излъчването от ваксинирано животно е незначително в сравнение с неваксинирано животно. Следователно в модела е прието, че като се вземе консервативно предположение за ефективност на ваксина от 90%, това означава, че девет от десет животни са били правилно ваксинирани и също така са разработили ефективен имунен отговор.

### **Опит на Кралство Нидерландия за контрол на Ку-треската при кози**

Поради синхронизирания сезон на агнене в комбинация с това, че *C. burnetii*, се излъчва най-силно при раждане или аборти, разпространението на Ку-треска показва модел на „силно изразен пик“ през годината, като най-голямо е разпространението малко след агненето. В годините се наблюдава пик в броя на заразените животни, абортите и инфекциозният товар през 1-та – 2-та година след въвеждане на Ку-треска в стадото. *C. burnetii* може да оцелее от размножителен сезон до размножителен сезон като вътреклетъчна бактерия в организма на козата (персистираща инфекция). Според модела, наличието на трайно заразени кози е достатъчно, за да може бактерията да оцелее от година на година в стадото – не са необходими други механизми за запазването

на инфекцията. Когато болестта изчезне в козето стадо, можем да предположим, че вече няма риск за човешкото здраве.

**Когато се разглежда средното време до изчезване на инфекцията и инфекциозния товар в козето стадо, най-добрата стратегия за контрол е „превантивната ваксинация“ (подържана с годишна ре-ваксинация), последвана от реактивни стратегии за ваксинация – „Ваксинация след абортна вълна“ и „Ваксинация след положителен тест на пробите от сборно мляко“.**

Тъй като по-голямата част от отделянето на патогена се случва по време на раждане и аборт, стратегията на „Избиване на бременни животни след абортна буря в стадото“ води до бързо намаляване на излъченото количество на *C. burnetii* в околната среда. След това вече не се наблюдава пик в броя на заразените животни, аборти и инфекциозния товар в стадото на козите. Въпреки това, Ку-треската няма да бъде унищожена в стадото чрез тази мярка. Смята се, че в проба от сборното мляко в резервоара дава положителен резултат за ДНК на *C. burnetii*, дори когато съдържа мляко от само едно заразено животно в стадото. Това предположение за перфектна вероятност за откриване на бактериите в сборно мляко (на ниво ферма) е близко до реалността, базирана на (Van den Brom et al., 2012b), като са необходими много малко животни излъчители, за да се получи положителен резултат от теста на сборното мляко. **Така че вероятността за откриване чрез PCR теста в модела е 100% на ниво ферма, но 50% на индивидуално ниво** (индивидуална проба мляко). Следва за да се има предвид също и периодичното излъчителство чрез млякото.

Когато по време на сезона на агненето сборната проба мляко се окаже с положителен резултат на PCR теста, тогава всяка заразена млечна коза, която произвежда мляко, има 50% шанс да бъде открита и унищожена при индивидуалното тестиране. С тази предполагаема ефикасност от 50% за откриване и последващо избиване, стратегията за търсене и унищожаване (т.е. изследване и бракуване) не е ефикасна, тъй като това не води до изчезване на болестта и не намалява достатъчно инфекциозния товар. Ако беше възможно тази ефикасност да се увеличи на 100%, тогава всички постоянно заразени кози щяха да бъдат отстранени от популацията след сезона на агненето. Давайки средна продължителност на живота на една коза от 2,7 години (Холандска млечна порода), всяка година 37% от размера на стадото ще следва да се заменя. Тогава стадният имунитет ще отслабне бързо, тъй като тази част от стадото (новите животни) няма имунитет срещу Ку-треска. Само ако ваксинацията продължи няколко години след навлизането на болестта, вероятно е стадото да се освободи до голяма степен от Ку-треска.

След провеждане на контролните стратегии, Ку-треската може да се контролира чрез манипулиране на **честотата на бременността (и по този начин на агненето) на козите**. Стилът на управление на стадото „Всяка година бременна“ винаги дава по-лоши резултати от другите стилове на управление на стадото „На всеки две години бременна“ или „Първи две години бременност“. **По този начин, при стил на управление на стадото, при който се случват с по-малко раждания на коза, е по-добър от този, в който козата ражда всяка година**. Стилете на управление на стадото „На всеки две години бременност“ и „Първи две години бременност“ не се различават особено.

## Заклучения

- Резултатите от настоящия модел показват, че **само ваксинацията е в състояние да предотврати появата и да контролира огнищата на Ку-треска в стадата млечни кози, независимо от начина на управление на стадото.**

- Van Asseldonk et al. (2013) изчисляват, че общите разходи, включително направените разходи за човешко здраве при избухването на огнищата на Ку-треска в Нидерландия, са приблизително 307 милиона Евро. Въз основа на резултатите от модела, представен от авторите се изчислява, че разходите за поддържане на защитата срещу Ку-треска при хора, чрез програма за ваксинация на млечните кози, са сравнително ниски (Van Asseldonk et al., 2015).
- Следователно ваксинацията трябва да се разглежда като постоянна стратегия и инструмент за контрол, за да се запазят стадата от Ку-треска и да се предотвратят непреките рискове за човешкото здраве.
- Избиването на кози след „вълна от аборти“ не води до дългосрочно премахване на болестта на стадно ниво, но намалява рисковете за човешкото здраве в краткосрочен план по време на епидемичния взрив.

## ИЗВОДИ:

Високото разпространение на инфекция с *C. burnetii* в млечните стада, отчетено в последните проучвания (Нидерландия) и дългият период на преживяемост и оцеляване на тази бактерия в околната среда изискват прилагането на мерки за контрол, насочени към намаляване нивото на експозиция на ниво стадо. Приложени са мерки за контрол, базирани на лечение с антибиотици и използването на ваксинации. Неотдавнашно проучване показва, че антибиотиците, прилагани на млечни сухостойни говеда значително предотвратяват излъчването на *C. burnetii* в периода на и след отелването. **Така че, когато се установи инфекция в стада с едри преживни животни и има замърсяване на околната среда чрез изпражнения или вагинални екскреции, прилагането на програма с използването на ваксини е не само полезно, но и необходимо, за да се намали излъчителството на *C. burnetii* от инфектираните животни.** Това има отношение главно за намаляване на рисковете за човешкото здраве, но не и към продукцията и икономическата изгода. За това избирането на стратегия за контрол и ерадикация на Ку-треската с отчитане на икономическите ползи и загуби конкретно за всеки случай е от решаващо значение за по-нататъчното управление на епидемичния процес във фермата.

## При говеда

1. Необходим е анализ на разходите и ползите, отчитащ икономическите аспекти на програмите за контрол и ваксинация, за да се създаде оптимална стратегия за контрол и ерадикация на Ку-треската. **Научните изследвания показват, че дългосрочната ваксинация намалява риска от инфекция във ваксинираните стада говеда. Доказано е, че ваксинацията с фаза I ваксина при говеда потиска излъчителството на *C. burnetii* в млякото, плацентата, маточната и вагиналната течност и коластрата.**
2. Ваксинацията, която се използва широко при говеда е определена като дългосрочен вариант за контрол на инфекции с *C. burnetii* от Европейския орган по безопасност на храните (ЕОБХ) в нарочно научно становище на панелът АНАВ от 2010 г. (EFSA Scientific Opinion on Q Fever, 2010).

3. Резултатите от това становище подчертават стойността на прилагането на ваксинация и в незаразени стада. При заразените стада ваксинацията трябва да се прилага при всички предполагаемо възприемчиви животни, или поне на юниците. Ваксинацията на млечните крави трябва да се извършва, когато вътре в стадото серопреваленсът е нисък, т.е. когато инфекцията все още не се е разпространила широко.
4. Добре организираната и структурирана лабораторно диагностична система на БАБХ следва да има одобрен и финансиран план за активен и пасивен надзор на кокселиозните заболявания в страната по въдства и ферми и реални данни за разпространението на Ку-треската. БАБХ следва да работи в тясно сътрудничество по места с РЗИ при планиране и изпълнение на дейностите в областта на публичното здраве и обмена на данни за реалното разпространение и състояние с кокселиозите при животни и хора.

### При дребни преживни

Ваксинацията е ефективна за бързо намаляване на разпространението *C. burnetii* в стадо млечни кози и е в състояние да предотврати и контролира огнищата на Ку-треска във фермите.

5. Ваксината не е в състояние да предотврати заразяване с *C. burnetii* при яретата, нито да изчисти инфекцията при заразени възрастните кози, но ефективно намалява нивото на излъчителство, както броят на излъчителителите, така и излъченият бактериален товар чрез маточните секрети, вагиналните изтечения и млякото на ваксинираните кози в силно заразеното стадо.
6. Поради това превантивната ваксинация трябва да се разглежда като постоянна мярка за контрол, за да се запазят стадата от Ку-треска и да се предотвратят непреки рискове за човешкото здраве. Необходимо е предварително определяне състоянието на заразеност в стадото, индивидуално и за всички животни и съпоставяне на събраните индивидуални данни за възрастта и репродуктивния статус на козите.
7. Ваксинацията предизвиква цялостно намаляване на нивата на излъчителство и най-голямото намаление се установява при нераждали животни. На практика това означава, че младите нераждали животни трябва да бъдат ваксинирани преди да забременеят. Ваксинирането на възрастните овце се счита за един от най-добрите варианти за контролиране на инфекцията с *Coxiella burnetii*.
8. Като най-ефективна стратегия за контрол на Ку-треската чрез ваксиниране във вече заразени стада от преживни животни или в здрави стада се счита дългосрочната ваксинационна стратегия и ваксиниране на цялото стадо. Тази стратегия най-ефикасно намалява разпространението на излъчители, излъченият бактериален товар в околната среда и броя на абортите. Тъй като инфекцията рядко се унищожава през първите години на ваксинация, ранното спиране на ваксинацията би било неефективно в дългосрочен план.

Прекратяване (спиране) на ваксинацията ("exit strategy")

9. Преди да се спре програма за ваксинация във фермата, важно е да се определи присъствието или отсъствието на *C. burnetii* в стадото (диагностичните тестове на ниво стадо (напр. PCR в мляко) могат да бъдат полезни, както и през първите месеци след прекратяване на ваксинацията да се следи увеличаването на разпространението на излъчители, излъчения бактериален товар в околната среда и броят на абортите.

#### ЛИТЕРАТУРНИ ИЗТОЧНИЦИ:

1. *Prevention of Coxiella burnetii shedding in infected dairy herds using a phase I C. burnetii inactivated vaccine; Authors Raphaël Guatteo<sup>a,b</sup> Henri Seegers<sup>a,b</sup> Alain Joly<sup>c</sup>, François Beauudeau<sup>a,b</sup>; <sup>a</sup> Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, UMR 1300 Bio-Agression, Epidémiologie et Analyse de Risque, F-44307 Nantes, France; <sup>b</sup> INRA, UMR 1300 Bio-Agression, Epidémiologie et Analyse de Risque, F-44307 Nantes, France; <sup>c</sup> Union Bretonne des Groupements de Défense Sanitaire, F-56000 Vannes, France; Received 11 March 2008, Revised 4 June 2008, Accepted 10 June 2008, Available online 30 June 2008. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.06.023>; Vaccine - Volume 26, Issue 34, 12 August 2008, Pages 4320-4328; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X08007603?via%3Dihub>;*
2. *Renee CREMOUX & Rousset, Elodie & Touratier, Anne & Audusseau, Ghislain & Nicollet, Philippe & Ribaud, Danièle & David, Valérie & Pape, Marilyne. (2011). Assessment of vaccination by a phase I Coxiella burnetii-inactivated vaccine in goat herds in clinical Q fever situation. FEMS immunology and medical microbiology. 64. 104-6. 10.1111/j.1574-695X.2011.00892.x. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00892.x; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22066485/>*
3. *Courcoul, A., Hogerwerf, L., Klinkenberg, D. et al. Modelling effectiveness of herd level vaccination against Q fever in dairy cattle. Vet Res 42,68 (2011). <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-68>; <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-42-68>*
4. *Bontje, D.M. & Backer, J.A. & Hogerwerf, Lenny & Roest, Hendrik-Jan & Roermund, H J W -Herman. (2016). Analysis of Q fever in Dutch dairy goat herds and assessment of control measures by means of a transmission model. Preventive Veterinary Medicine. 123. 10.1016/j.prevetmed.2015.11.004.; <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587715300441>*
5. *Ianire, Astobiza & Barandika, Jesús & Ruiz-Fons, Francisco & Hurtado, Ana & Povedano, Inés & Juste, Ramón & García-Pérez, Ana. (2011). Four-Year Evaluation of the Effect of Vaccination against Coxiella burnetii on Reduction of Animal Infection and Environmental Contamination in a Naturally Infected Dairy Sheep Flock. Applied and environmental microbiology. 77. 7405-7. 10.1128/AEM.05530-11.; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3194887/>*
6. *Arricau-Bouvery, Nathalie & Souriau, Armel & Bodier, Christelle & Dufour, Philippe & Rousset, Elodie & Rodolakis, Annie. (2005). Effect of vaccination with phase I and phase II Coxiella burnetii vaccines in pregnant goats. Vaccine. 23. 4392-402. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.04.010.; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16005747/>*
7. *Piñero, Alvaro & Barandika, Jesus & Hurtado, Ana & García-Pérez, Ana. (2014). Progression of Coxiella burnetii infection after implementing a two-year vaccination program in a naturally infected dairy cattle herd. Tierärztliche Umschau. 69. 522-+. PMID: 25053249 PMCID: PMC4115166 DOI: 10.1186/s13028-014-0047-1; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25053249/>*

8. *A systematic review and meta-analysis of phase I inactivated vaccines to reduce shedding of Coxiella burnetii from sheep and goats from routes of public health importance*; T J O'Neill 1, J M Sargeant, Z Poljak; *Zoonoses Public Health* . 2014 Dec;61(8):519-33. doi: 10.1111/zph.12086. Epub 2013 Nov 19. PMID: 24251777 DOI: 10.1111/zph.12086
9. *Four-Year Evaluation of the Effect of Vaccination against Coxiella burnetii on Reduction of Animal Infection and Environmental Contamination in a Naturally Infected Dairy Sheep Flock*; Ianire Astobiza, Jesu's F. Barandika, Francisco Ruiz-Fons, Ana Hurtado, Ine's Povedano, Ramo'n A. Juste, and Ana L. Garcia-Pe'rez\* *NEIKER—Instituto Vasco de Investigacio'n y Desarrollo Agrario, Department of Animal Health, Berreaga 1, 48160 Derio, Bizkaia, Spain*; Received 18 May 2011/Accepted 13 August 2011; *Applied and environmental microbiology*, Oct. 2011, p. 7405–7407 Vol. 77, No. 20; 0099-2240/11/\$12.00 doi:10.1128/AEM.05530-11; Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.
10. *EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on Q Fever*. *EFSA Journal* 2010; 8(5):1595. [114 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1595. Available online: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)



Други научни становища и актуална информация от областта на здравето, хуманното отношение и благосъстоянието на животните, антимикробната резистентност, както и оценка на риска по цялата хранителна верига може да намерите на сайта на Центъра за оценка на риска по хранителната верига:

<http://focalpointbg.com/?cat=27>

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

<http://corhv.government.bg/?cat=27>

<http://corhv.government.bg/?cat=71>

16.10.2020 г.

Проф. д-р Георги Георгиев, д.в.м.н. и екип от Център за оценка на риска по хранителната верига