

ДИРЕКЦИЯ “ЗДРАВЕОПАЗВАНЕ И ХУМАННО ОТНОШЕНИЕ КЪМ ЖИВОТНИТЕ И КОНТРОЛ НА ФУРАЖИТЕ”
БЪЛГАРСКА АГЕНЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ
✉ гр. София,1606; бул. “Пенчо Славейков”15 А; e-mail: ahwfc@bfsa.bg

ПРИЛОЖЕНИЕ КЪМ ЗАПОВЕД № РД 11-166/23.01.2018 г.

ПРАКТИЧЕСКО РЪКОВОДСТВО
ЗА
БОРБА С АФРИКАНСКАТА ЧУМА ПО КОНЕТЕ



Януари, 2018 г.

Съдържание **стр.**

I.	Въведение	3
II.	Описание на болестта	3
	Етиология	3
	Епизоотологични особености	3
	Клинични признаци	4
	Свръхостра (белодробна) форма	5
	Остра (смесена) форма	5
	Подостра (сърдечна, едематозна) форма	5
	Лека (фебрилна) форма	5
	Патологоанатомични изменения	7
	Диференциална диагноза	10
	Зоонозен аспект	10
III.	Процедури за контрол и вземане на проби	11
IV.	Лабораторна диагностика	12
V.	Исторически данни за епизоотичното развитие на болестта	19
VI.	Регистрация на обектите за отглеждане на еднокопитни и идентификацията им	20
VII.	Законодателство	21
VIII.	Начин на отглеждане и категории еднокопитни животни	22
IX.	Надзор на заболяването	22
X.	Допълнителни източници за заболяването	22
XI.	Мерки при съмнение за възникване на африканска чума по конете	23
XII.	Мерки за ограничаване и ликвидиране на африканската чума по конете	23
	Мерки в заразената зона	23
	Определяне на границите на предпазна и наблюдаваната зони	24
	Мерки в предпазната зона	25
	Мерки в наблюдаваната зона	25
XIII.	Мерки при съмнение, възникване ограничаване и ликвидиране на африканската чума по конете в кланици, пазари, изложби, състезания и гранични пунктове	26
XIV.	Оценка на еднокопитните в инфектиран животновъден обект	29
XV.	Убиване на еднокопитни	29
XVI.	Обезвреждане на трупове	29
XVII.	Почистване и дезинфекция	30
XVIII	Правила за дезинсекция при африканска чума по конете	30
XIX.	Ваксинация срещу африканска чума по конете	30
XX.	Списък с контактни лица	31

I. Въведение:

Практическото ръководство е изготвено съгласно Наредба № 24 от 14.12.2005 г. за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на АЧК и за условията и реда за прилагането им / обн., ДВ, бр.6 от 20.01.2006 г., в сила от 1.05.2006 г. /, която въвежда изискванията на Директива 92/35/ЕС в националното законодателство.
Целите на ръководството са да бъдат представени подробни инструкции и информация, относно практически аспекти при борбата с болестта африканска чума по конете, както при домашните, така и при дивите еднокопитни.

Настоящото практическо ръководство и стратегическия и ресурсен план за ликвидиране на особенно актуални заразни болести по животните сформират националния оперативен план за ликвидиране на класическата чума по свинете.

II. Описание на болестта:

Африканската чума по конете (АЧК) е високопатогенна инфекциозна болест по конете характеризираща се с висока смъртност. Боледуват коне, магарета, техните кръстоски и зебри. Причина за заболяването е вирус от род Orbivirus включен в семейство Reoviridae. Вирусът е подобен на този причиняващ син език при дребния рогат добитък. Заболяването не е контагиозно. Заразяване се получава в резултат на ухапване от насекоми, които се явяват и негов вектор. При някой форми на заболяването смъртността достига до 95%.

Етиология

Причинител на заболяването е вирус от род Орбивируси. Той се инактивира при 50°C за 3 часа, а при 60°C за 15 минути. pH под 6,0 и над 12,0 оказват неблагоприятно въздействие върху него. Чувствителен е към дезинфектанти като фенол и йодофори, 0.1% формалин го инактивира за 48 часа. При температура от 37°C оцелява за 37 дни.

Вирусът е открит през 1930 г. от Макс Тейлър. Установено е, че заразяване може да се получи от девет серотипа на вируса с общ комплемент-свързващ антиген. Серотип 9 е разпространен повсеместно и на него се дължат голяма част от ендемичните взривове. Серотипове от 1 до 8 са разпространени само в определени райони. Установено е, че заболяването в Испания и Португалия в периода 1987 - 1990 г. е причинено от вирус серотип 4. Вирусът притежава едноверижна РНК. Размерите му варират в рамките на 55 - 70 nm.

Епизоотологични особености

Основен вектор са малки подобни на комари мокреци от род Culicoides, предимно Culicoides imicola. Насекомото предпочита топли, влажни условия. Не се наблюдава трансовариално предаване на вируса към ларвите. Този факт показва, че за прекъсването на епизоотичната верига в даден район е достатъчна дълга и продължителна зима за да загинат заразоносителите. Други второстепенни вектори на АЧК са комари от родовете Culex, Anopheles и Aedes, а също така и кърлежи от родове Hyalomma и Rhipicephalus. Мухите от родове Stomoxys и Tabanus могат да бъдат механични преносители на вируса. Установени са и случаи на заразяване от насекоми пренесени посредством въздушни течения на голямо разстояние.

Гостоприемници на вируса са коне, магарета, техните кръстоски и зебри. По-рядко боледуват слонове, камили и кучета (след консумация на заразено конско месо). Често те не показват никакви признаци на заболяването. При проучване на болестта в Египет са установени антитела срещу вируса в овце, кози, камили, биволи и кучета.

Заболяването проявява изключителен сезонен характер. То се проявява с пик в периодите на влажно време, свързано с обилни валежи, в резултат на което се размножават векторите на вируса. В района около град Асуан в Египет заболяването се регистрира целогодишно, дори и в сухия период на годината. Причината е, че в този район вектор на заболяването се явява кърлеж от вида Hyalomma dromedarii, който е активен през цялата година.



Снимка 1. Culicoides imicola



Снимка 2. Culex quinquefasciatus

Вирусът се намира във всички вътрешни органи и кръвта. Отделя се, чрез семенната течност, урината и други екскрети. Виремията при коне може да продължи до 18 дена, но обикновено е по-кратка - средно 4 - 8 дена. При зебрите и магарета виремията може да продължи до 28 дена.

Клинични признаци

Инкубационният период е в рамките на 7 до 14 дена, но може да бъде и по-кратък в рамките на два. При различните клинични форми на заболяване този период е различен. При белодробната форма той е 3 - 5 дена, при сърдечната е 7 - 14 дена, при смесената е 5 - 7 дена и при леката форма е 5 - 14 дена.

Известни са четири форми на проява на заболяването - свръхостра (белодробна), остра (смесена), подостра (сърдечна) и лека (фебрилна) форма проявяваща се само с треска. Най-често се проявяват свръхострата и острата форма на АЧК при което се засягат чувствителни към това заболяване индивиди. При кучетата най-честата форма на боледуване е белодробната. Леката форма се наблюдава при животни развили частичен имунитет. Обикновено се проявява при зебри и в повечето случаи протича без видими симптоми. Заболеваемостта и смъртността варират в зависимост от вида на животното, наличието на предишен имунитет както и формата на заболяването. Изходът от белодробната форма на африканска чума по конете е почти винаги фатален, а смъртността от сърдечната форма обикновено е 50% или по-висока. При смесената форма смъртността варира в рамките на около 70% до 80%. За разлика от тях леката

форма почти не води до смърт. Конете са особено податливи на по-тежките форми на болестта, а смъртността при тях обикновено е от 50% до 95%. При останалите видове еднокопитни животни африканската чума по конете се проявява в по-леки форми. При мулетата смъртността е около 50%, а при европейските и азиатските магарета е 5% до 10%. Смъртният изход от заболяването е много рядък и при африканските магарета и зебрите.

Свръхостра (белодробна) форма

Тази форма обикновено започва с висока температура (40 - 40,5°C), последвана от внезапна поява на тежки респираторни признаци. Болните животни демонстрират затруднено дишане. За да облекчат дишането конете изпъват предните си крака напред и настрани, а главата е изпъната напред. Ноздрите са разширени, наблюдава се трахипнея, спазматична кашлица и пенлив серофибринозен ексудат от носа. Животните са мокри в резултат на обилното потене. Признаците прогресират изключително бързо и заболелите умират за няколко часа.

Остра (смесена) форма

При смесената форма на африканска чума по конете се проявяват едновременно респираторна и сърдечна форма в различна степен. В повечето случаи, сърдечна форма протича субклинично и се последва от тежък респираторен дистрес. При други от случаите респираторните симптоми са слабопроявени, но се последват от оток и смърт от сърдечна недостатъчност. Смесената форма на африканска чума по конете рядко се диагностицира клинично, но често се наблюдава при аутопсия на коне и мулета.

Подостра (сърдечна, едематозна) форма

Сърдечната форма обикновено започва отново с висока температура (39 - 41°C) и състоянието на треска продължава от 3 до 6 дни. Малко преди да се повиши телесната температура се проявява много характерния за тази форма оток в областта на клепачите и надорбиталната трапчинка. По-късно отока се разпространява в областта на бузите, устните, езика, междучелюстното пространство, областта на гърлото, а понякога и на врата, раменете и гръдния кош. Други клинични признаци, обикновено се наблюдават в крайните етапи на болестта. Те включват тежка депресия, колики, екхимози върху вентралната повърхност на езика, и петехиални кръвоизливи по конюнктивата. Смъртта настъпва в резултат на сърдечна недостатъчност и настъпва в рамките до една седмица след появата на първите клинични признаци. Ако животното се възстанови отоците спадат постепенно за 3 до 8 дни.

Лека (фебрилна) форма

Тази форма се характеризира с бързопреходна треска, лека анорексия, депресия, отоци в областта на надорбиталната трапчинка и повишен сърдечен ритъм. Животните почти винаги се възстановяват.

Изключително рядко може да се прояви и пета форма на проявление- ***нервна*** с поява на нервни признаци при болните животни.



Снимка 3.Пенести изтечения от носа



Снимка 4. Оток на главата

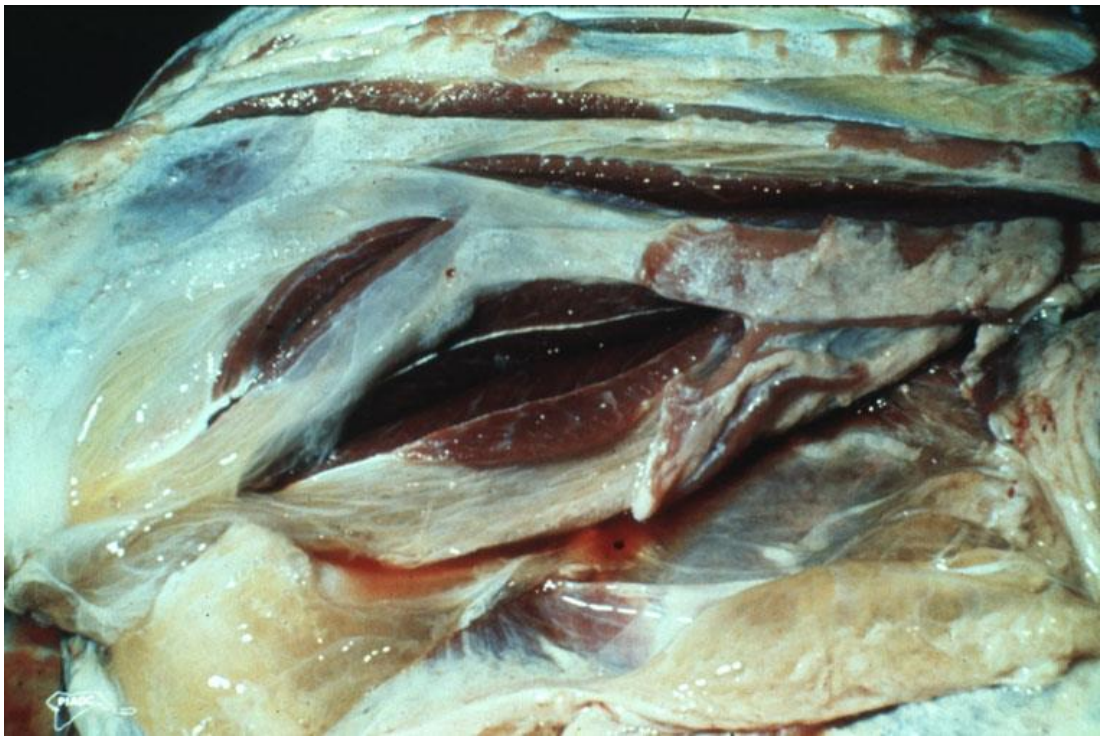
Патологоанатомичтни изменения:

Наблюдаваните патологични изменения при белодробната форма на африканска чума по конете се характеризират с интерлобуларен оток на белите дробове и хидроторакс. При свръхостриte случаи се наблюдават пенести изтечения от носа и лезии по белите дробове. При по-продължителни случаи на боледуване се наблюдава субплеврален интерстициален оток и хиперемия. Възможно е повишаване на количеството на течностите в коремната и гръдна кухини. Лимфните възли, особено тези в разположени в областите на гръдната и коремната кухина са уголемени и отекли. Наблюдават се субкапсулни кръвоизливи в далака, изменения в бъбречната кора и фундусната част на стомаха, едематозен инфилтрат около аортата и трахеята. Лигавицата на стомаха е хиперемирана и отекла. Наблюдават се точковидни кръвоизливи по лигавицата на тънките и дебелите черва и перикарда.

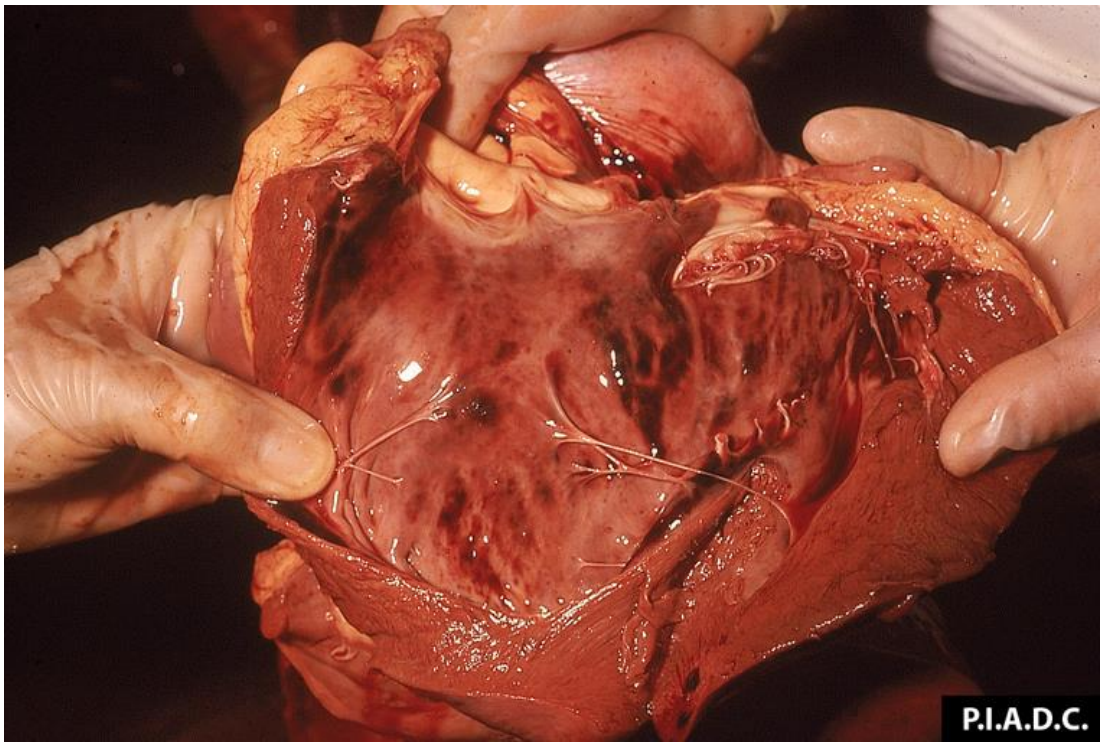
При сърдечната форма се наблюдават жълти желеобразни инфилтрати в подкожната и междумускулна фасция на главата, врата и раменете, а понякога и в областта на гърдите, корема и задницата. Наблюдава се хидроперикард и точковидни кръвоизливи по епикарда и ендокарда. Подобно на белодробната форма се наблюдават лезии в стомашно-чревния тракт. При тази форма са характерни обилни отоци в субмукозата на сляпото черво и ректума.



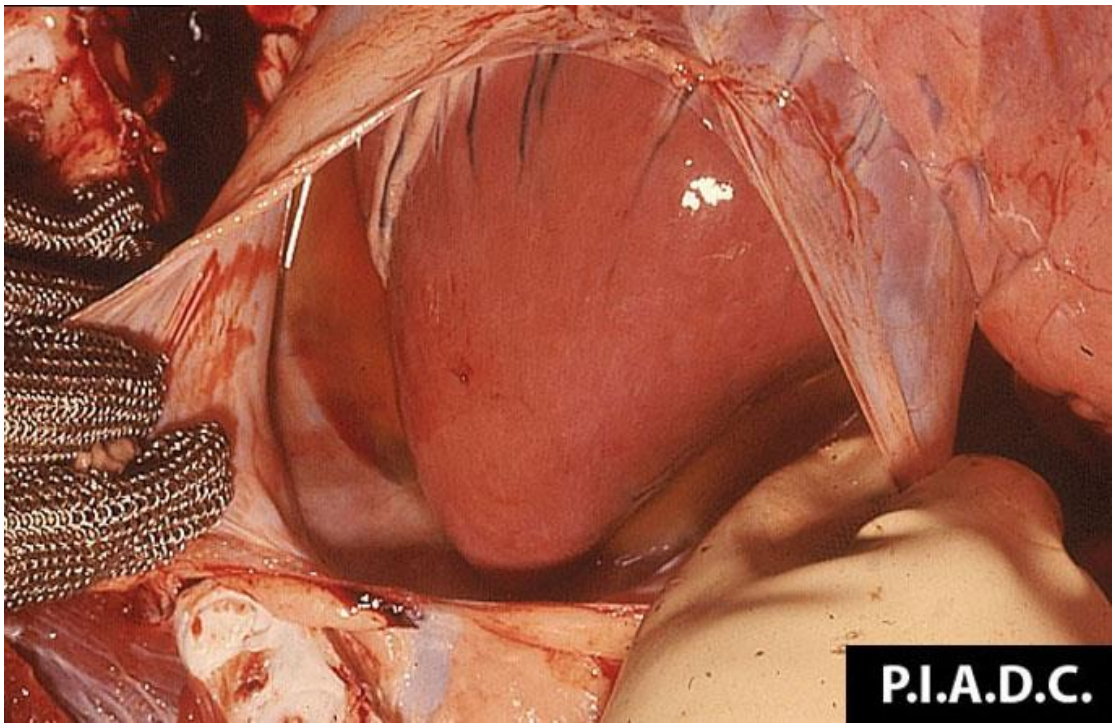
Снимка 5. Петехиални кръвоизливи по серозата на цекума



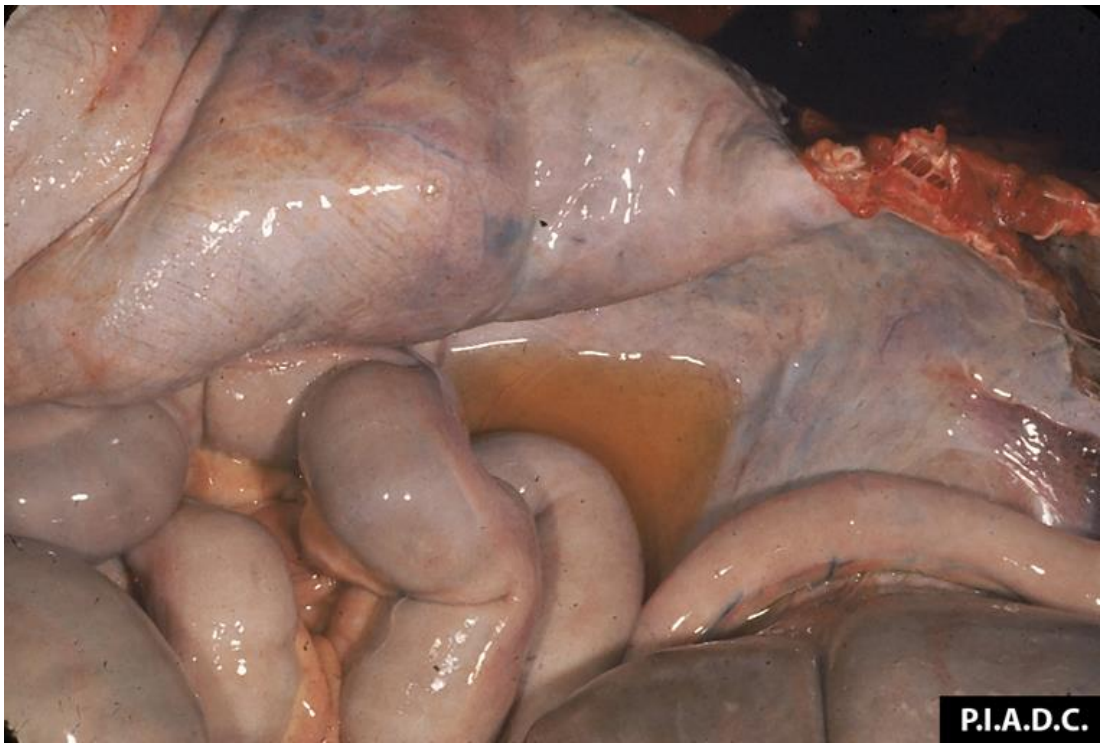
Снимка 6. Междумускулни отоци



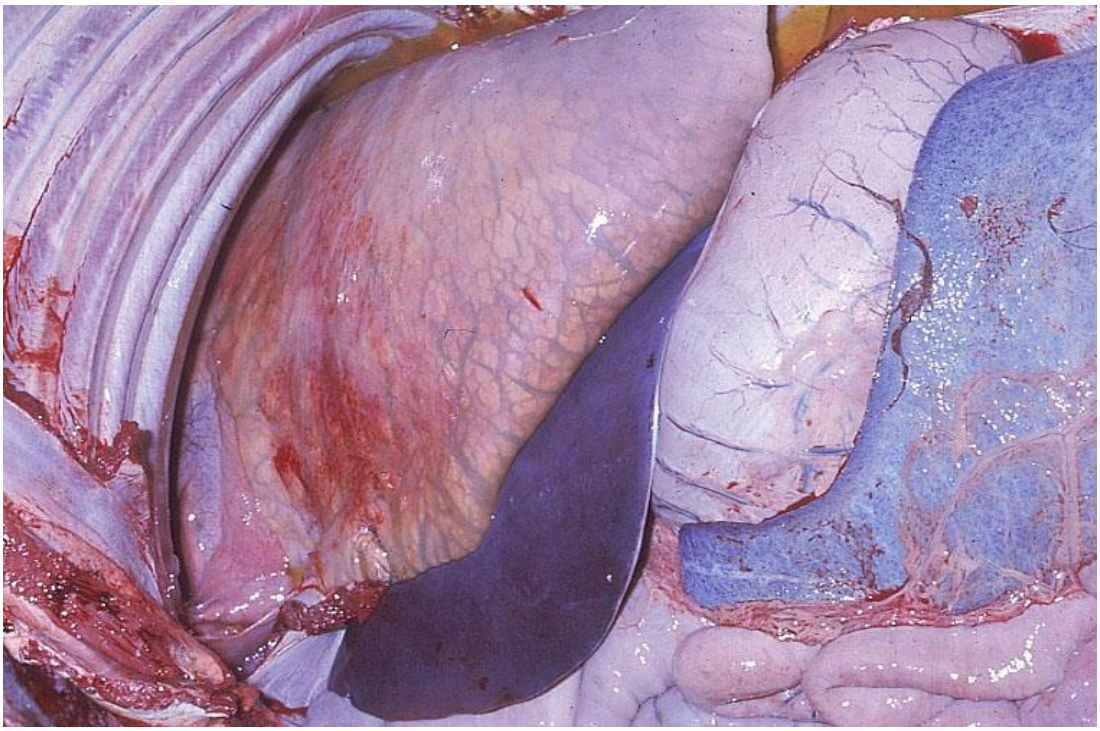
Снимка 7. Субендокардиални хеморагии



Снимка 8. Хидроперикард



Снимка 9. Хидроперитонеум



Снимка 10. Интерлобуларен едем и петехии по плеврата

Диференциална диагноза:

В диференциално-диагностично отношение трябва да се вземат в предвид следните заболявания проявяващи се със сходни на АЧК признаци:

- Антракс
- Сап
- Инфекциозна анемия по конете
- Хендра
- Вирусен артериит
- Дурин
- Вирусни енцефалити
- Пироплазмоза

Зоонозен аспект:

Вирусът на АЧК не представлява опасност за човешкото здраве.

III. Процедури за контрол и вземане на проби и лабораторна диагностика

Вземане и транспортиране на проби

С лабораторната диагностика се цели доказване на наличието на вирус в заразеното животно или наличието на антитела в резултат на контакта на организма с вируса.

За вирусологична диагноза приживе се изпраща хепаринизирана кръв взета по време на треска. Кръвта се транспортира до лаборатория при 4°C

Подходящи органи за вирусологично изследване след настъпване на смъртта са далак, бял дроб и лимфни възли взети от наскоро умрели животни. Органите се транспортират в 10% глицеринов разтвор при 4°C.

За серологично изследване се изпраща кръвен серум. За предпочитане е да се вземе двойна проба. Съхранява се при -20°C

Вземане на кръвни проби

Вземане на кръвни проби от югуларната вена:
Еднокопитното животно се задържа в стоящо положение. Иглата се вкарва в югуларната вдлъбнатина в средната третина на врата. Иглата се насочва леко краниално и медиално до проникване в югуларната вена. Препоръчваният размер на иглата е 1G g. дълга до 50 мм.



Снимка 11. Кръвна проба

Вземане на органни проби
Тъканните проби трябва да се събират, колкото е възможно по-асептично, без контакт с дезинфектант и трябва да се слагат в отделни чисти контейнери, всеки с етикет посочващ номера на животновъдния обект, в който се отглеждат еднокопитните., номерът на чипа от животното от, което е взета пробата, типа на тъканта, името на официалния ветеринарен лекар и датата на събирането. Формулярът за предаване, който придружава пробите, трябва да предоставя подробна информация за животните, от които са взети пробите, включително клинични и послесмъртни доказателства и бележка за други видове животни, които се отглеждат във фермата. Едно копие от формуляра за предаване трябва да се задържи от официалния ветеринарен лекар за досието на случая и едно копие трябва да се изпрати по факса на Националния център за контрол на заболяванията. Тъканите, които се изискват за лабораторно изследване, нормално са:

- Далак
- Бял дроб
- Лимфен възел (за предпочитане от гръдната и/или коремната кухина)

Вземане на проби от далак, бял дроб и лимфни възли.
За да се вземе проба от далак, еднокопитното трябва да се положи на своята дясна страна. Кожата, която покрива левите ребра и коремната кухина се отмята настрани от гръбнака. След това втори чист нож се използва за да се направи срез между третото последно и четвъртото последни ребра, като се дава възможност последните три ребра да се огънат назад към гръбнака, така че да се остави перитонеума незасегнат и да се открие далака под него. Перитонеумът се повдига като се използват дисекционни пинсети и се инцезира над далака. Свободният край на далака се държи с обикновени пинсети и част от 3см се отстранява и се поставя в чист контейнер. За вземане на проба от бял дроб се разрязва диафрагмата като се прониква в гръдната кухина. След осигуряване на достъп до белия дроб се изрязва част от засегнат дял. За предпочитане е вземането на лимфни възли разположени в областта на двете големи телесни кухини – гръдна и коремна. Най лесния начин е откриването на мезентериални лимфни възли от коремната кухина. Лимфен възел се отпрепарира от мезентериума и с пинсет се поставя в подходящата транспортна среда.

Транспортиране на проби
Кръвните и тъканите проби трябва да се транспортират, за предпочитане с куриер, но във всеки случай по най-бързия възможен начин до Националната референтна лаборатория. Лабораторията трябва да бъде информирана, че са изпратени проби за диагностициране и да се даде индикация за очакваното време на тяхното пристигане, за да може да се направи подготовка за своевременото приемане и изпитване. По време на транзита те трябва да се съхраняват студени, но не замръзнали. В лабораторията пробите могат да се съхраняват при 4° С, но трябва да се тестват незабавно за африканска чума по конете.

Важно е формуляра за предаване, който придружава пробите до лабораторията да включва отчет за близката клинична история на еднокопитните животни в населеното място или района и всякакви налични епидемиологични данни, включително ако е възможно вероятния източник на инфекцията, възможните вектори на заболяването и датата на въвеждане.

IV. Лабораторна диагностика.

За откриване на вируса се прилагат следните лабораторни методи:

- За вирус изолация
    - Заразяване на лабораторни мишки.
    - Култивиране в клетъчни култури от конски ембрионален бъбрек. Образува се характерен цитопатогенен ефект с образуване на цитоплазмени включения и деструкция на клетките.

- За вирус идентификация
    - ELISA
    - Вирус неутрализация (ВНР)

- РСК

От серологичните методи за доказване на наличието на антитела се използват следните методи:

- ELISA
- РСК
- Immunoblotting (сравнителен тест)

Реактивите за извършване на описаните методи могат да бъдат получени от референтните лаборатории за АЧК от Европейската общност или референтните лаборатории на Световната организация за здравеопазване на животните.

Идентификация на вируса (вирусологични тестове)
За идентификацията на вируса на африканската чума по конете се използват следните лабораторни техники и методи - ЕЛАЙЗА за бързо доказване на вируса, използвайки поликлонални (ПКА) и моноклонални (МКА) антитела, полимеразно верижна реакция (PCR) и инокулиране на клетъчни култури и новородени мишлета. Винаги трябва да се правят всички тестове при съмнение за АЧК, като се започне от бързите ЕЛАЙЗА или PCR. Изолирането на вирус върху клетъчни култури и последвалото извършване на вирусно неутрализационна реакция (ВНР) с оглед серотипизирането на щама е необходимо да бъде направено от самото начало на появата на болестта. Най-често в лабораториите се прилага реакция ЕЛАЙЗА за поставяне на бърза диагноза. От изключителна важност при поставянето на диагноза АЧК е правилното вземане и транспортиране на пробите до лабораторията.

Проби и методи за изолиране на вируса
Стабилизирана кръв с антикоагулант, взета по време на температурния стадий на болестта от болните животни, малки парченца (2 - 4 г) от далак, бял дроб и лимфни възли от умрели животни. Пробите се съхраняват и транспортират при 4°С.

1. Клетъчни култури
За изолиране на вируса на АЧК успешно се използват постоянна клетъчна линия от бъбрек на хамстер (ВНК 21) и постоянна клетъчна линия от миши бъбрек (VERO). Кръвните проби с хепарин се използват за инокулиране неразредени, като след 60 мин адсорбция клетките се промиват и се добавя поддържаща среда. При заразяването на клетъчните линии с органни суспензии от далак, бял дроб и лимфен възел те трябва да бъдат 10%-ни (обем/обем), приготвени с фосфатен буфер (PBS) или клетъчно културална среда, съдържаща антибиотици. При наличие на вирус се появява цитопатичен ефект на клетъчни култури (ЦПЕ) от два до осем дни след заразяването. Задължително се извършват три слепи пасажа преди поставянето на отрицателна диагноза.

2. Новородени мишлета
За изолиране на вируса се използва и интрацеребрално заразяване на 1 - 3-дневни новородени мишлета най-малко от две семейства. При положителна реакция при животните се установяват нервни признаци между 3-тия и 15-ия ден след инокулацията. Мозъкът от всичките мишлета (по семейства) се събира, хомогенизира и инокулира повторно на нови най-малко шест новородени мишлета. При този втори

пасаж нервните признаци трябва да се появят по-рано (от 2-рия до 5-ия ден) при 100% заразяемост.

3. Сандвич ЕЛАЙЗА

Най-малко две реакции ЕЛАЙЗА са разработени за доказване на вирусен антиген от теренни проби или лабораторно заразени клетъчни култури. Едната техника използва поликлонални антитела (ПКА), а другата - моноклонални (МКА), на един и същ основен протеин, който е общ за повечето серотипове на заболяването - VP7. Двата метода могат да се прилагат независимо един от друг, като чрез тях бързо (от 2 до 4 часа) се поставя диагноза АЧК. Реагентите за тези реакции се получават в случай на нужда от Референтната лаборатория за АЧК в Европейския съюз.

3.1. Извършване на ЕЛАЙЗА теста при използването на моноклонално антитяло

3.1.1. Твърда фаза - плаките се натоварват със смес от МКА 5G5 и 3D2, разтворени в PBS съответно 10 µl/ml всяко с последвала инкубация една нощ на 4°C.

3.1.2. След трикратно промиване на плаките с дестилирана вода, съдържаща 0,05% Tween 20, те внимателно се изтръскват върху адсорбиращ материал до отстраняване на излишната течност в ямките.

3.1.3. Накапва се по 200 µl на ямка блокиращ разтвор, съдържащ PBS + 1% говежди серумен албумин (БСА), за един час на 37°C.

3.1.4. Изсипва се внимателно блокиращият разтвор и се изтръскват плаките.

3.1.5. Пробите за изследване (далачни суспензии или клетъчнокултурална течност) се накапват в неразредено състояние, последвано от две разреждания в PBS + 1% БСА по 100 µl на ямка, с последвала инкубация от 1 час на 37°C. Суспензията от органи (далак, бял дроб, л. възел) се получава, като 2 см (около 1 г) от органа се хомогенизират в 3 мл MEM (Minimal essential medium) среда, с последвало центрофугиране на 600 g за 10 мин, като се използва супернатантът.

3.1.6. Плаките се промиват трикратно.

3.1.7. Във всяка ямка се накапва конюгат - по 100 µl биотин-макрирано 5G5 МКА, в разреждане 1:500 в PBS + 1% БСА. След инкубиране за един час на 37 °C плаките се промиват и се накапва по 100 µl на ямка авидин-пероксидаза в оптимално разреждане в PBS + 1% БСА, с последвал престой 45 мин на стайна температура.

3.1.8. Плаките се промиват трикратно и в тях се накапва по 200 µl на ямка субстратен разтвор 10 мл 80,6 mM DMAB (dimethyl aminobenzaldehyde) + 10 мл fj 1,56 mM MBTH (3-methyl-2-benzo-thiazolinone hydrazone) + 5 µl H2O2. Цветната реакция се спира чрез прибавяне на 50 µl разтвор на 3N H2SO4 за около 5 - 10 мин, преди отрицателната контрола да започне да се оцветява.

3.1.9. Плаките се отчитат на ридър при 600 или 620 nm.

3.2. Интерпретиране на резултатите

3.2.1. Първо се изчислява пределната стойност, както следва - C + 0,06 (където C е стойността на отрицателната контрола, 0,6 е стандартното отклонение, получено при група от 30 отрицателни серума).

3.2.2. Пробите, показали стойност, по-ниска от тази, се смятат за отрицателни.

3.2.3. При по-големи стойности от пределната стойност + 0,15 се считат за положителни.

3.2.4. Пробите, показали лъжливо положителни резултати, се подлагат отново на изследване за потвърждаване на резултатите.

4. Полимеразно верижна реакция

PCR тестът е специфичен за доказване на вирусния РНК на АЧК. Праймерите кореспондират с 5' края (нуклеотиди 1 - 21) и в 3' края (нуклеотиди 1160 - 1179) от

сегмент 8 от РНК на вируса.

Извършване на теста
От далачна суспензия се екстрахира нуклеиновата киселина, както следва: 1 г от пробата се хомогенизира в 1 мл от денатуриращ разтвор (4 M guanidium thiocyanate, 25 mM sodium citrate, 0,1 M 2-mercaptoethanol, 0,5 % sarcosyl), след което се извършва центрофугиране. Към супернатанта се прибавят 1 g чиста РНК, 0,1 ml of 2 M sodium acetate pH4, 1 ml phenol and 0,2 ml chloroform/isoamyl alcohol mixture (49/1), като получената смес внимателно се разбърква в продължение на 15 мин в баня от лед. Следва отделяне на преципитираната РНК на вируса след фенолна екстракция и преципитация с алкохол. Методът на ДНК синтезата и PCR амплификацията се прилага при 37°C. Секвенциите на PCR праймерите използват последователност 5' GTTAAAATTCGGTTAGGATG 3', която винаги кореспондира с поляритета на добавената РНК. Анализът на получения резултат чрез PCR се извършва посредством електрофореза с 1,2% агаразен гел, съдържащ ethidium bromide.

Серологични тестове

5. Индиректен вариант на ЕЛАЙЗА
Използва разтворим вирус на АЧК или рекомбиниран VP7 протеин за доказване на антитела, се прилага доста често. Имуноблотинг тестът също е адаптиран за доказване на антитела срещу вируса на АЧК. Напоследък приложение намери и ЕЛАЙЗА, използваща неструктурния протеин NS3 за антиген, като тази реакция може да служи при разграничаването на ваксинирани от инфектирани животни. РСК се прилага повсеместно, но при някои серуми не се наблюдава антикомплементарна активност.

5.1. Сравнителна ЕЛАЙЗА за доказване на антитела срещу вируса на африканската чума по конете
Сравнителната ЕЛАЙЗА се използва за доказване на антитела срещу вируса на АЧК в серуми от различни видове и категории еднокопитни. Принципът на реакцията се състои в компететивно свързване на антитела срещу вируса на АЧК. Така реакцията, която протича между антигена и антителата от антиморскосвински серум, се променя при добавяне на серумна проба с наличие на антитела срещу вируса, което визуално се отразява в промяна на оцветяването след прибавяне на ензим. Изследваните серуми могат да бъдат тестирани при единично разреждане 1:5 или да бъдат титрирани за установяване на крайното разреждане. Стойности, по-високи от 50%, могат да се считат за положителни. Този метод се използва в регионалната референтна лаборатория за АЧК в Пърбрайт, Великобритания.

Извършване на теста
5.1.1. Подготовка на плаките
5.1.1.1. Плаките за ЕЛАЙЗА се натоварват с 100 µl на ямка антиген на вируса АЧК, екстрахиран от клетъчно културална течност и разреден в карбонатно-бикарбонатен буфер с pH 9,6, за една нощ при 4°C.
5.1.1.2. Плаките се промиват трикратно с PBS с pH 7,2 - 7,4, след което се подсушават.
5.1.2. Контролни ямки на плаките
5.1.2.1. Положителните контролни серуми се титрират в двойна серия разреждане, започващи от 1:5 до 1:640, в колона 1 в блокиращ буфер (PBS + 5% обезмаслено сухо мляко Cadbury's Marvel TM + 0,05% w/v Tween 20 и 1% ГСА) до получаване на 50 µl на ямка.

5.1.2.2. Към ямки A и B от колона 2 се добавя 50 µl от отрицателния серум при разреждане 1:5 (10 µl серум + 40 µl блокиращ буфер).

5.1.2.3. В ямки C и D от колона 2 (празна) се добавя 100 µl на ямка блокиращ буфер.

5.1.2.4. В ямки E, F, G и H от колона 2 се накапва 50 µl блокиращ буфер.

5.1.3. Метод за единична титрация:

Прибавя се в разреждане 1:5 серум в блокиращ буфер в колоните от 3 до 12 (10 µl серуми + 40 µl блокиращ буфер).

Или:

5.1.4. Метод на титрацията:

Приготвят се двойни серийни разреждания от 1:5 до 1:640 в блокиращ буфер в осем ямки от единични колони (3 до 12).

След което:

5.1.5. Добавят се 50 µl антисерум от морско свинче, предварително разреден в блокиращ буфер във всички ямки на плаката с изключение на празните (така навсякъде количеството е 100 µl на ямка).

5.1.5.1. Плаките се инкубират за 1 час при 37°C върху орбитален шейкър.

5.1.5.2. Плаките се промиват трикратно, след което се подсушават.

5.1.5.3. Към всяка ямка се прибавя 50 µl конюгат: заешкиантиморскосвински пероксидаза, предварително разтворен в блокиращ буфер.

5.1.5.4. Инкубира се в продължение на 1 час при 37°C върху орбитален шейкър.

5.1.5.5. Плаките се промиват трикратно и се подсушават.

5.1.6. Хромоген

Ортофенилендиаминовият разтвор се приготвя според инструкциите (0,4 мг/мл в стерилна дестилирана вода) непосредствено преди употреба. Добавя се субстрат водороден прекис до крайна концентрация 0,05% v/v (1 към 2000 на 30% разтвор на H2O22). Във всяка ямка се накапва по 50 µl от Орто фенилен диамин разтвора, като след 10-минутен престой на стайна температура реакцията се спира чрез прибавяне на ямка 50 µl 1M H2SO4.

5.1.7. Отчитане

Извършва се на ЕЛАЙЗА ридър при дължина на вълната 492 nm.

5.1.8. Интерпретиране на резултатите

5.1.8.1. С помощта на софтуерна програма се отчитат резултатите от оптичната плътност. За валидиране на теста е необходимо горната граница и долната контролна граница на серума от морско свинче да са между 1,4 и 0,4. Крайният титър за положителния контролен серум, базиран на 50%, трябва да бъде 1:240 в граници от 1:120 до 1:480. Всяка плака, която не отговаря на стандарта, трябва да се изхвърли. Въпреки това, ако при отрицателните серуми титърът е 1:480 и нагоре, те могат да се приемат за отрицателни. Двойните серумни ямки на отрицателната контрола и празните трябва да дават стойности съответно между +25% и -25% и между +95% и +105%. При положение че стойностите са извън тези граници, това не означава, че плаката е невалидна, а е признак за оцветяване.

5.1.8.2. Проби, даващи инхибиция повече от 50%, се считат за положителни. Проби, при отчитането на които стойностите са под 50%, се считат за отрицателни. При двойните проби, при които се установяват стойности от различните кладенчета под и над 50%, се считат за съмнителни. Обикновено тези проби се подлагат на повторно изследване. Положителните проби също могат да се титрират с цел да се установи степента на положителност.

5.2. Индиректна ЕЛАЙЗА за доказване на антитела

Тестът използва VP7 протеина като антиген за установяване на антитела срещу вируса

на АЧК

5.2.1. Процедура на теста:

5.2.1.1. Твърда фаза

5.2.1.1.1. Плаките се натоварват с рекомбиниран АЧКВ 4 VP7, разреден в карбонатно-бикарбонатен буфер с pH 9,6, след което се инкубират една нощ на 4°C.

5.2.1.1.2. Плаките се промиват петкратно с дестилирана вода, съдържаща 0,01 % Tween20.

5.2.1.1.3. Накапва се по 200 µl на ямка блокиращ разтвор, съдържащ PBS + 5% обезмаслено сухо мляко "Нестле", с престой 1 час на 37°C.

5.2.1.1.4. Внимателно се излива блокиращият разтвор и плаките се подсушават.

5.2.1.2. Серумни проби:

5.2.1.2.1. Серумите заедно с положителния и отрицателния серум се разреждат 1:25 в разтвор, съдържащ PBS + 5% обезмаслено сухо мляко "Нестле" + 0,05% Tween 20, и се накапват в количество по 100 µl на ямка с последвала инкубация от 1 час на 37°C. При титрирането се прави двойна серия разреждания в цяла колонка, като същото важи и за положителния и отрицателния серум.

5.2.1.2.2. Плаките се промиват, както е описано в т. 2.

5.2.1.3. Конюгат

5.2.1.3.1. Антиконски глобулин, маркиран с пероксидаза, разреден в разтвор, съдържащ PBS + 5% обезмаслено сухо мляко "Нестле" + 0,05% Tween 20 с pH 7,21, се поставя по 100 µl във всяка ямка, с последвала инкубация 1 час на 37°C.

5.2.1.3.2. Плаките се промиват, както е описано в т. 2.

5.2.1.4. Хромоген/субстрат

Във всяка ямка се поставя по 200 µl на ямка субстратен разтвор (10 мл 80,6 mM DMAB (dimethyl aminobenzaldehyde) + 10 мл fj 1,56 mM MBTH (3-methyl-2-benzo-thiazolinone hydrazone) + 5 µl H2O2). Цветната реакция се спира чрез прибавяне на 50 µl разтвор на 3N H2SO4 за около 5 - 10 мин, преди отрицателната контрола да започне да се оцветява.

5.2.1.5. Плаките се отчитат на ридър при дължина на вълната 600 или 620 nm.

5.2.2. Интерпретиране на резултатите

5.2.2.1. Първо се изчислява cut-off стойността, както следва - C + 0,06 (където C е стойността на отрицателната контрола, 0,6 е стандартното отклонение, получено при група от 30 отрицателни серума).

5.2.2.2. Пробите, показали стойност, по-ниска от тази, се смятат за отрицателни.

5.2.2.3. При по-големи стойности от cut-off + 0,15 се считат за положителни.

5.2.2.4. Пробите, показали лъжливо положителни резултати, се подлагат отново на изследване за потвърждаване на резултатите.

5.3. Блокираща ЕЛАЙЗА за доказване на антитела срещу вируса на АЧК

Чрез метода се доказват специфични антитела срещу вируса на АЧК в серуми от възприемчиви към болестта животни. Основен антиген на реакцията е VP7 протеинът, който е основен за всичките девет серотипа. Този метод се извършва в референтната лаборатория по АЧК на Европейската общност в Алхете, Испания.

5.3.1. ЕЛАЙЗА тест

5.3.1.1. ЕЛАЙЗА плаки

5.3.1.1.1. Плаките се натоварват с новополучен АЧКВ VP7, разреден в карбонатно-бикарбонатен буфер с pH 9,6, с последвала инкубация за една нощ при 4 °C.

5.3.1.1.2. Плаките се промиват петкратно с PBS, съдържащ 0,05% v/vTween 20 (PBST).

5.3.1.1.3. Плаката се стабилизира със стабилизиращ разтвор, което позволява тя

да престоява продължително време на 4°C.

5.3.1.2. Контроли със серумни проби

5.3.1.2.1. Скрининг тест серумите и контролите се разреждат в PBST1:10 директно върху плаката до получаване на краен обем 100 µl на ямка, с последвала инкубация от 1 час при 37°C.

5.3.1.2.2. Титрация: приготвя се двойна серия разреждане на тестираните серуми и положителните контроли (100 µl на ямка от 1:10 до 1:280). Отрицателните контроли се разреждат 1:10.

5.3.1.3. Конюгат

Добавя се по 50 µl на ямка предварително разреден моноклонално антитяло срещу VP7, маркирано с пероксидаза, като след хомогенизиране и разбъркване престоява 30 мин при 37°C.

5.3.1.4. Плаките се промиват петкратно с PBST и се подсушават.

5.3.1.5. Хромоген/субстрат

Прибавят се по 100 µl на ямка хромоген/субстратен разтвор (1 мл ABTS(2,2'-Azino-bis-[3-етилбензотиазолин-6-sulphuric acid]) 5 mg/ml + 9 ml субстратен разтвор (0,1 M фосфатно-цитратен буфер с pH 4, съдържащ 0,03% H_2O_2) и се инкубира в продължение на 10 мин на стайна температура. Оцветяването се спира чрез прибавяне на 100 µl на ямка 2% (w/v) SDS (sodium dodecyl sulphate).

5.3.1.6. Отчитане

Извършва се посредством ЕЛАЙЗА ридър при дължина на вълната 405 nm.

5.3.2. Интерпретиране на резултатите.

5.3.2.1. Валидност на теста

Той е валиден, когато оптичната плътност на отрицателната контрола (ОК) е по-висока от 1,0, а тази на положителната контрола (ПК) е по-ниска от 0,2.

5.3.2.2. Изчисляване на пределните стойности:

положителна стойност (ПК) - ОК - (ОК - ПК) x 0,3;

отрицателна стойност (ОК) - ОК - (ОК - ПК) x 0,2,

където ОК е екстинцията на отр. контрола, а ПК - на положителната.

5.3.2.3. Интерпретиране на резултатите

Проби с екстинция, по-ниска от положителната стойност, се считат за положителни за антитела срещу АЧКВ.

Проби с екстинция, по-висока от отрицателната стойност, се считат за отрицателни за антитела срещу АЧКВ.

Проби с екстинция между тези две стойности се считат за съмнителни, като две до три седмици след това се вземат нови кръвни проби от същите животни и се подлагат отново на изследване с теста.

5.4. Имуноблотинг тест

Свързването на антитела с вирусни протеини, разделени при електрофореза и след това прехвърлени върху нитроцелулозна мембрана, също се прилага като метод за доказване на антитела срещу вируса на АЧК.

5.4.1. Тест процедура

Полупречистените протеини от вируса на АЧК се разделят с помощта на SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis) в 15% acrylamide-N,N'-diallytartar-diamide (DATD) гел. Така разделените протеини се прехвърлят върху нитроцелулозни мембранни филтри при постоянен ток със сила 280 mA за 6 часа при 4°C. Нитроцелулозните мембрани се изрязват и се обработват с тестираните серуми в разреждане 1:20, след това с конюгат, маркиран с пероксидаза заешки антиконски имуноглобулин - 1:500, и се инкубира за 1 час на 37°C. Оцветяването на бендовете се извършва посредством 4-хлор-нафтол техника.

5.4.2. Интерпретиране на резултатите

Сравняват се бендовете на положителната и отрицателната контрола с тези на изследваните серуми. Появата на повече от два бенда показва, че серумът е положителен за наличие на антитела срещу вируса на АЧК.

5.5. ЕЛАЙЗА срещу неструктурните протеини на вируса (NS3 ЕЛАЙЗА)

Тази реакция се използва, за да може да се различават антитела,получени вследствие на ваксинация с AHSV-4, и такива, които са инфектирани с вирулентен вирус.

5.6. Реакция за свързване на комплемента (РСК)

РСК се използва с оглед установяването на групово специфични антикомплементални антитела срещу вируса на АЧК. Най-често като антиген се използва захарно-ацетонов екстракт от миши мозък. При отсъствие на стандартизин серум антигенът се титрира срещу местен положителен серум. За контролен антиген служи миши мозък, получен по същия начин от здрави мишки.

Серумите от коне трябва да бъдат инактивирани на 56°C, серумите от зебри на 60°C, а от магарета на 62°C за 30 мин. Тестираните серуми се разреждат 1:10 и се инактивират по посочения начин. Титрацията на положителните контроли се извършва в двукратни разреждания. Антигените - положителен и контролен, се разреждат в буфер, съдържащ 4 - 8 антигенни единици във veronal buffered saline, съдържащ 1% gelatin (VBSG);

морскосвинският комплемент се разрежда във VBSG до 4 CH50 (50% complement haemolytic units). Серумите, комплементът и антигенът се свързват, поставени в 96-ямкови плаки с равно дъно или в епруветки, поставени на 4°C за 18 часа. Хемолизинът се разрежда в реакцията до 2 хемолитични единици и се употребява заедно с промити овчи еритроцити. Еритроцитите се стандартизират до 3% концентрация и се добавят в ямките. Реакцията продължава с инкубация за 30 мин на 37°C. Плаките се центрофугират на 200 g и се отчита наличието на хемолиза. За контроли служат: (a) серум и комплемент (b) серум и еритроцити (c) антиген и контролен, всеки с 4 CH50, 2 CH50, and 1 CH50 от комплемента (d) антиген с еритроцити (e) контролен антиген с еритроцити (f) разреждания на комплемента от 4 CH50, 2 CH50, and 1 CH5 и (g) еритроцити. Титърът се определя от най-високото разреждане на серум, фиксирано от комплемента с положителния антиген. Така титър в разреждане от 1/10 се счита за положителен, а под 1/10 - за отрицателен.

5.7. Реакция вирус неутрализация (ВНР)

ВНР се използва се определяне на серотипа.

Вирусният антиген се разрежда до 30 - 100 TCID50 (50% tissue cultureinfective dose) за 25 µl и 25 µl се прибавя във всяка епруветка, съдържаща 25 µl серумни разреждания. При скриингови изследвания се използва разреждане на серума до 1:10.

Сместа от серум с вирус се инкубира за 60 минути при 37°C преди добавяне на 0,1 ml от VERO клетъчна суспензия (200 000 клетки/ml) във всяка епруветка.

При титрация вирусният антиген се приготвя за тестване на четири разреждания по 25 µl на ямка. Плаките се инкубират на 37°C, 5% CO2, 95% влажност за 4 - 5 дни, при съдържание на вирус 30 - 100 TCID50.

Плаките се фиксират и оцветяват с разтвор на 0,15% crystal violet in2% glutaraldehyde, след което се промиват.

За 50% крайна точка на титъра на серума се изчислява по метода на Spearman-Karber и се определя отрицателният log10.

V. Исторически данни за епизоотично развитие на болестта:

През петдесетте години на миналия век, заболяването е придобило епидемичен характер в района от Индия до Близкия изток при което около 300 000 еднокопитни животни са били унищожени. През 1966 г. е наблюдавана втора епизоотична вълна на

заболяването в района на Северна Африка и южната част на Испания. Като основна причина за тези взривове на заболеваемост се посочва рязкото намаляване на популациите от зебри в Африка. През 1987 г., АЧК е пренесена в Испания, чрез внос на зебра от Намибия. През 1988 г. отново е наблюдаван случай на АЧК в Испания, а в началото на 1989 г. отново няколко спорадични случаи като няколко от тях са регистрирани и в Португалия. Последните големи взривове на болестта са регистрирани през 2001 г. в Ботсвана и Намибия. Случаите на заболели животни са в западната част на Ботсвана като огнищата през 2001 г. са били 11 бр. В Намибия през 2000 г. са регистрирани две огнища, а през 2001 г. броят им е седем. От тогава до днес заболяването продължава да бъде регистрирано в редица страни с единични случаи. До момента заболяването не е разпространено в България.

VI. Регистрация на обектите за отглеждане на еднокопитни и идентификацията им.

В чл. 51, ал.1 от Закона за ветеринарномедицинската дейност е посочено, че животните подлежат на идентификация, а животновъдните обекти на регистрация. БАБХ е официалната компетентна служба за идентификацията на животните, която поддържа компютъризирана информационна система за въвеждане на данни за идентифицираните животни и регистрираните животновъдни обекти. Информационната система на БАБХ се използва за проследяване на пробите и на процеса на тяхното разработване.

Наредба № 61 от 9.05.2006 г. за условията и реда за официална идентификация на животните за които не са предвидени изисквания в регламент на ЕС не регламентира начините на идентификация на еднокопитните животни. Поради тази причина България спазва изцяло текста заложен в Регламент 262/2015/ЕС по отношение на методите за идентификация на еднокопитните животни.

Регистрацията на животновъдните обекти (в това число и на тези в които се отглеждат еднокопитните) се извършва от органите на БАБХ или от упълномощени от тях частнопрактикуващи ветеринарномедицински специалисти. Животновъдните обекти, в които се отглеждат еднокопитни подлежат на регистрация в:

- регистъра за отразяване на движението (обр. ЗХОЖ-69), който се поддържа от собственика.
- информационната система на БАБХ;

Кодовият регистрационен номер на обекта се дава еднократно и остава постоянен, независимо какви видове животни се регистрират в този обект. Всички информационни данни се съхраняват за срок 3 години след прекратяване на дейността на животновъдния обект или продажба, клане, смърт и др. на отделно животно, отглеждано в обекта.

Съгласно Регламент 262/2015/ЕС еднокопитните се идентифицират електронен микрочип произведен по ISO стандарт 11784 и 11785, разчитан посредством четящо устройство отговарящо на стандарт ISO 11784 и прилагащо технологията HDX или FDX-B и четимо от четящо устройство, съвместимо със стандарт ISO 11785 на минимално разстояние от 12 cm;

Съгласно Закона за ветеринарномедицинската дейност, собствениците на селскостопански животни са длъжни:
- да представят животните си за идентификация, ваксинация и диагностични изследвания;
- да осигуряват достъп до животновъдния обект и животните на ветеринарния лекар, който ги обслужва;
- да спазват изискванията за придвижване и транспортиране на животни;
Не се разрешава движение на неидентифицирани животни до пазари, изложения, кланици, панаири, състезания и до други стопанства или населени места.

VII. Законодателство

Нормативна база, която следва да се прилага за целите на борбата с и контрола на АЧК (само основни ключови мерки) е посочена в таблицата по долу:

Законодателство на Европейския съюз	**Съответни български нормативни актове и мерки**
Директива на Съвета 92/35/ЕИО (определяне на правила за контрол и мерките за борба с АЧК)	НАРЕДБА №24/ 14.12.2005 г. за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на АЧК и за условията и реда за прилагането им / обн., ДВ, бр.6 от 20.01.2006 г., в сила от 1.05.2006 г. /
Директива на Съвета 82/894/ЕЕС (Правила за обявяване на заболявания в Общността)	НАРЕДБА №23/14.12.2005 г., за реда и начина за обявяване и регистрация на заразните болести по животните/ обн., ДВ, бр. 6 от 20.01.2006 г., в сила от 1.05.2006 г./
Директива 92/65/ЕИО (определяне на изискванията относно търговията и вноса в Общността на животни, сперма, яйцеклетки и ембриони, които не са предмет на ветеринарно-санитарните изисквания)	НАРЕДБА №49/ 20.04.2006 г. за здравните изисквания към някой животни, сперма, яйцеклетки и ембриони при обмен между Република България и държавите членки на ЕС, и при внасянето им от трети страни / обн., ДВ, бр.44 от 30.05.2006 г. в сила от 30.05. 2006 г./
Директива на Съвета 90/426/ЕИО (Директивата за ветеринарно-санитарните условия , регулиращи движението и вноса на еднокопитни от трети страни)	НАРЕДБА №45/20.04.2006 г. за здравните изисквания при придвижване на еднокопитни животни между Република България и държавите членки на ЕС, и внасянето от трети страни/ обн., ДВ, бр.43 от 26.05. 2006 г., в сила от 26.05. 2006 г./
Директива на Съвета 90/425/ЕИО (Директивата за ветеринарните и зоотехническите проверки, приложими при търговията в Общността с определени видове живи животни и продукти с оглед завършване изграждането на вътрешния пазар)	НАРЕДБА №5/ 22.02.2007 г. за организацията на граничния ветеринарномедицински контрол при внасяне и транзитно преминаване на животни от трети страни /обн., ДВ, бр.22 от 13.03. 2007 г., в сила от 13.03 2007 г./

	НАРЕДБА №34/ 23.03.2006 г. за изискванията за извършване на проверки на животни, зародишни продукти, странични животински продукти и продукти, получени от тях, при обмен между Република България и държавите членки на ЕС / обн., ДВ, бр. 30 от 11.04.2006 г., в сила от 1.01.2007 г./

VIII. Начин на отглеждане и категории еднокопитни животни

За целите на програмата за контрол и ерадикация на АЧК, животновъдните стопанства на територията на страната, в които се отглеждат еднокопитни се групират в следните видове:

а) Стопанства за отглеждане на спортни (регистрирани) коне – такива са конезаводи, жребцови депа, хиподруми и по-дребни ферми, в които се отглеждат малък брой коне. Конете отглеждани в подобни обекти са чистокръвни или полукръвни, използват се за спорт или разплод. Често биват придвижвани за състезания, изложения и други мероприятия, където се срещат с еднокопитни от други стопанства, региони и страни.

б) Стопанства за отглеждане на еднокопитни с цел полска или горска работа. Животните са нечистокръвни или представители на местни примитивни породи. Те се използват с цел работа. Отглеждат се предимно единично в дадено стопанство заедно с други видове продуктивни животни.

IX. Надзор на заболяването

Съгласно Националната програма за профилактика, надзор, контрол и ликвидиране на болестите по животните и зоонозите, ежегодно се вземат и изследват сондажни серологични изследвания на отглежданите в конезаводите, племенните ферми и конните клубове животни. Изследванията се извършват по методи посочени в чл. 23 от Наредба № 24 от 14 декември 2005 г. за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на африканската чума по конете и за условията и реда за прилагането им.

X. Допълнителни източници за заболяването.

Информация по отношение на АЧК може да бъде намерена на следните уеб-страници:

http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/african_horse_sickness.pdf
http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/official-disease-status/african-horse-sickness/
http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/index_en.htm

При епизоотична обстановка БАБХ може като допълнение към информацията на уеб страницата си да въведе гореща линия за отговори на публични въпроси.

Литература: Цачев Ил. Екзотични инфекциозни болести по животните. 2006, Стара Загора, 88 стр.

XI. Мерки при съмнение за възникване на африканска чума по конете

При констатиране на съмнение за заболяването АЧК, съгласно Наредба № 24 от 14.12.2005 г. за мерките за профилактика, ограничаване и ликвидиране на Африканската чума по конете и условията и реда за прилагането им, която въвежда изискванията на Директива 92/35/ЕС в националното законодателство се предприемат следните мерки:

Ветеринарният лекар, който обслужва животновъдния обект, незабавно уведомява официалният ветеринарен лекар от съответната Областна дирекция по безопасност на храните, който извършва проучване за потвърждаване или налагане на необходимите мерки.
Официалният ветеринарен лекар посещава обекта, в който е възникнало съмнението за АЧК и:

- Поставя животновъдния обект под възбрана,
- Изготвя и актуализира при всяко посещение в обекта списък, който съдържа броя на наличните, родените, съмнително болните, заболелите и умрелите еднокопитни животни.
- Извършва проучване на биотопите и определя средства за дезинсекция, наличието на вектори в обекта и провежда дезинсекция за тяхното унищожаване, извършва епизоотологично проучване,
- Извършва клиничен преглед на еднокопитните животни в засегнатия обект,
- Извършва аутопсия на умрелите еднокопитни животни и взема материал за лабораторно изследване.
- Разпорежда прибирането на еднокопитните животни в затворено помещение или на място, където животните могат да бъдат предпазени от вектори, забранява вкарване, изкарване и преместване на еднокопитни животни, постеля, фураж, тор, инвентар, транспортни средства и други предмети, които могат да бъдат вектори.
- Предприема мерки за унищожаване векторите на болестта чрез прилагане на подходящи средства във и около помещенията, в които са настанени еднокопитни.
- Дава указания за обезвреждане на умрелите животни.
- Уведомява кмета и собствениците на еднокопитни животни в населеното място за опасността от възникване на АЧК и предприетите от БАБХ мерки и забранява на работещите в обекта да посещават други животновъдни обекти, в които се отглеждат еднокопитни.

XII. Мерки за ограничаване и ликвидиране на африканската чума по конете

Мерки в заразената зона

При лабораторно потвърждаване на болестта официалният ветеринарен лекар:

- Незабавно започва умъртвяване в заразения обект на всички еднокопитни животни, показващи клинични признаци на АЧК и показалите положителен резултат при АЧК.
- Трябва да създаде условия за унищожаване, изгаряне или загробване на

труповете на еднокопитните животни в съответствие с изискванията, посочени в Регламент ЕО №1069/2009 от 21 октомври 2009г. За установяване на здравни правила, относно строничните животински продукти и производни продукти, непредназначени за консумация от човека и за отмяна на Регламент №1774/2002г. и Наредба № 22 от 2006 г. за условията и реда за обезвреждане на странични животински продукти и на продукти, получени от тях, и на специфичнорискови материали извън обектите, регистрирани в РВМС (ДВ, бр. 21 от 2006 г.).

- Налага ограничителни мерки, върху всички обекти, разположени в радиус 20 km (включени в "предпазната зона") около заразения/те обект/и.
- Започва систематична ваксинация на всички еднокопитни в зоната с ваксина, одобрена от компетентния орган, като тези животни се маркират с ясна, незаличима маркировка, приложена по метод, одобрен в Европейския съюз; на базата на епизоотологичните, метеорологичните, географските и климатичните данни компетентният орган може да отмени изискването за ваксинация, като за това уведоми Европейската комисия.
- Извършва епизоотологично проучване, което включва изясняване на предполагаемата дата на възникване на АЧК и начина на проникване на инфекцията в засегнатия обект. Източника на инфекцията в засегнатия обект и възможността за заразяване на еднокопитни животни в други обекти с вируса на АЧК от същия източник. Наличието и разпространението на вектори. Броят на еднокопитните животни, постъпили или напуснали засегнатия обект, и на труповете на еднокопитни животни, напуснали обекта.

Определяне на границите на предпазна и наблюдаваната зони

Когато възникне съмнение за широко разпространение на АЧК, компетентният орган налага горепосочените мерки, извън зоната, след анализ на географските, екологичните и метеорологичните условия или движенията до и от обекта/ите, където болестта е била потвърдена. За това действие компетентният орган уведомява ЕК.

Когато територията на заразената зона включва част от територия на повече от една държава, компетентните органи на държавите определят границите на зоната и мерките, които ще се предприемат в нея. Тази зона се определя според процедурата в Европейския съюз.

БАБХ определя предпазна зона и наблюдавана зона в зависимост от епизоотологичните данни, географските, административните и екологичните особености, свързани с АЧК и създадените структури за контрол.

Предпазната зона обхваща територията в радиус най-малко 100 км около засегнатия обект.

Наблюдаваната зона обхваща територията в радиус най-малко 50 км от външната граница на предпазната зона, в която не е била извършвана ваксинация срещу АЧК през последните 12 месеца.

Когато територията на предпазна зона или наблюдавана зона обхваща територията на

повече от една държава, БАБХ и ветеринарните служби на тези държави определят границите на зоната и мерките, които ще се предприемат в нея.

БАБХ след съгласуване с Постоянния комитет по хранителната верига и здравеопазването на животните към ЕК може да разшири границите на заразена зона, предпазна зона или наблюдавана зона в зависимост от: тяхното географско разположение и екологични фактори, метеорологичните условия, наличието и разпространението на вектори, резултатите от извършеното епизоотологично проучване, резултатите от лабораторните изследвания, ефикасността на извършваните мерки за контрол и в частност мерките за унищожаване на насекомите.

Мерки в предпазната зона

В предпазната зона официалният ветеринарен лекар:

- Изготвя списък на животновъдните обекти, в които се отглеждат еднокопитни животни, и броя на животните в тях
- Извършва периодични посещения на всички животновъдни обекти, в които има еднокопитни животни
- Извършва клинични прегледи на животните в обектите
- Извършва сондажни серологични изследвания за АЧК по схема, утвърдена от изпълнителния директор на БАБХ
- Извършва проверка на документацията на животновъдните обекти, свързана с посещенията на обслужващия ветеринарен лекар и резултатите от тях;
- Разрешава транспортирането на еднокопитни животни от обектите, в които е отглеждат, само когато животните са предназначени за незабавно клане в намираща се в зоната кланица, посочена от БАБХ, а когато в зоната няма такава кланица - разрешава транспортирането на животните до намираща се в надзорната зона кланица, посочена от БАБХ.

Изпълнителният директор на БАБХ може да внесе предложение съгласно процедурата на Европейския съюз за извършване на систематична ваксинация на еднокопитните животни срещу АЧК в предпазната зона, като тези животни се идентифицират. Решението за ваксинация се издава със заповед на министъра на земеделието и горите, която включва:

- Територията, на която ще се провежда ваксинацията;
- Еднокопитните животни, които ще се ваксинират;
- Схемата на ваксинация;
- Начина на идентификация на ваксинираните животни.

Мерките в предпазна зона се отменят 60 дни след умъртвяване на всички болни или серопозитивни за АЧК животни в заразената зона след извършена дезинсекция в засегнатите обекти и получени отрицателни резултати от лабораторните изследвания.

Мерки в наблюдаваната зона

В наблюдавана зона официалният ветеринарен лекар предприема мерките, които се прилагат и в наблюдаваната зона. Когато в наблюдавана зона няма подходяща кланица, еднокопитните животни от тази зона могат да бъдат заклани в намираща се в предпазна зона кланица, посочена от БАБХ. Забранява се ваксинацията срещу АЧК в

наблюдавана зона.
Мерките в наблюдаваната зона се отменят 60 дни след умъртвяване на всички болни или серопозитивни за АЧК животни в заразената зона след извършена дезинсекция в засегнатите обекти и получени отрицателни резултати от лабораторните изследвания.

При ваксинация срещу АЧК мерките в заразената, предпазната и надзорната зона се изпълняват най-малко 12 месеца след извършване на ваксинацията.

Придвижването на еднокопитни животни в зони с един и същи статут се разрешава от компетентния орган, когато:

- На животните е извършен клиничен преглед;
- Животните са идентифицирани;
- На животните им е извършено серологично изследване за АЧК и резултатът от него е отрицателен;
- Животните са придружени от ветеринарномедицински сертификат.

Ваксинираните срещу АЧК животни не могат да излизат от обектите, в които се отглеждат, най-малко 60 дни след извършване на ваксинацията.

При особено сериозна епизоотия от африканска чума по конете в отделен регион БАБХ след съгласуване с Постоянния комитет по хранителната верига и здравеопазването на животните към ЕК изменя мерките за ограничаване и ликвидиране на АЧК.
Националната ветеринарномедицинска служба своевременно информира лицата, които участват в прилагане на мерките за ограничаване и ликвидиране на АЧК в предпазна зона и наблюдавана зона, за въведените ограничения, които тези лица трябва да изпълнят.

XIII. Мерки при съмнение, възникване ограничаване и ликвидиране на африканската чума по конете в кланици, пазари, изложби, състезания и гранични пунктове

Мерки при съмнение или потвърждение на АЧК в кланица

Процедурите, които трябва да се следват при съмнение и потвърждение на АЧК в кланиците зависят от редица обстоятелства, различни за различните кланици. Ветеринарния лекар отговорен за кланицата изготвя оперативен план за месопреработвателното предприятие, под негов контрол. Незабавно трябва да бъде направена връзка с официалния ветеринарен лекар на общината, в която се намира обекта от който идва еднокопитното за осигуряване на обратно проследяване и незабавно посещение във фермата където е отглеждано съмнителното животно.

Основните процедури трябва да бъдат сведени до ограничаване на заболяването и възможно най бързо откриване на източника на инфекция и възможните вектори. В някои случаи може да бъде невъзможно отхвърлянето на съмнението докато не бъде извършено посещение и клинично обследване на други еднокопитни във фермата на произход и в съседни стопанства, в които се отглеждат еднокопитни.

Мерки при съмнение за АЧК в кланица

- Ветеринарния лекар, който има съмнение за АЧК, незабавно уведомява официалния ветеринарен лекар от ОДБХ.

- Официалният ветеринарен лекар запознава собственика с процедурите и задълженията му и поставя кланицата под забрана, така че превозни средства и персонал да не могат да напускат предприятието без разрешение от съответното ОДБХ.
- Всички съмнителни за болестта животни, както и други еднокопитни и трупове от същата пратка трябва да бъдат изолирани в помещения или част от такива, подходящи за тази цел. Труповете и другите субпродукти трябва да бъдат поставени под възбрана в отделни камери или хладилни помещения, подходящи за тази цел.
- Всички помещения с еднокопитни със съмнение за АЧК и фермите на произход се поставят под възбрана като след консултация с БАБХ, официалния ветеринарен лекар организира незабавно клинично обследване на фермата на произход.
- В случаите, когато съмнението касае заклано животно, трупа и субпродуктите се изолират и поставят под възбрана, заедно с всички останали потенциално контаминирани трупове и материали (от същото помещение и от обекта на произход). В кланицата (всички контактни помещения и местата, където се извършва предкланичния преглед) се извършва почистване и дезинфекция и дезинсекция по начин, гарантиращ обезвреждането на вируса на АЧК и възможните му вектори. Не се допуска влизането на други животни докато не бъде отхвърлено съмнението за АЧК.
- Извършва се незабавно събиране и изпращане на проби от далак, бял дроб и лимфни възли за лабораторно изследване. Кланицата и животновъдния обект на произход остават под възбрана до излизането на лабораторните резултати, отхвърлящи съмнението за АЧК.

Мерки при потвърждение на АЧК в кланица

БАБХ и /или ОДБХ определят и въвеждат метод за обезвреждане на труповете на всички контактни и потенциално инфектирани трупове, взимайки в предвид преобладаващите в кланицата фактори.
Не се допуска влизането за клане в предприятието на други животни, най малко 24 часа от извършването на почистване, дезинфекция и дезинсекция и без разрешение от ОДБХ.

Мерки при съмнение или потвърждение на АЧК на пазари, изложби и състезания.

Възможно е съмнение за случай на АЧК да се наблюдава първо на животински пазар, изложба или състезание. Общият принцип се състои в ограничаване на инфекцията на място и проследяване проникването на вируса по възможно най-бързия начин. Трудно е да се наложат бързи и ефикасни мерки на подобни места, тъй като обстоятелствата варират според типа и разположението на сградите, мащабите на пазара, изложбените помещения и др.

При констатиране на заболяване на подобни места официалният ветеринарен предприема нужните мерки по прекратяване на движение на животни към и от обекта и уведомява ОДБХ. След това провежда епизоотично проучване. Началник отдел “Здравеопазване на животните” взима решение дали животните да бъдат карантинирани на място или да бъдат преместени в друга карантинна база, но се препоръчва да останат на място.

Мерки при съмнение за АЧК на пазари, изложби и състезания.

- Информират се всички участници на мероприятието за съмнение за заболяването АЧК и за всички мерки, които ще бъдат предприети в бъдеще.
- Установява се произхода на съмнителното за заразяване животно
- Забранява се влизането и излизането на животни в и от пазара (изложбата, състезанието).
- Забранява се влизането и излизането на моторни превозни средства, каруци, ремаркета в и от пазара (изложбата, състезанието), като се затварят изходите и входовете на същия.
- Проверява се регистъра с имената и адресите на търговците, собствениците на животни и документите за придвижване.
- Извършват се дезинфекционни мероприятия по отношение на хората, които напускат пазара (изложбата, състезанието). Подготвят и се зареждат с дезинфекционен разтвор разположените на входа площадки за дезинфекция на транспортни средства. Създават се условия за извършване на дезинсекция.
- На входа на пазара (изложбата, състезанието) официалният ветеринарен лекар извършва изследване на всички съмнителни животни, за което информира ОДБХ, което влиза във връзка с Националния център за контрол на заболяването.
- Ако официалният ветеринарен лекар не може да отхвърли вероятността за проникване на вируса на АЧК взима необходимия брой проби за лабораторно изследване. До получаване на резултатите от изследването животните се поставят на оборен режим до вземане на решение от Националния център за контрол на заболяването.

Мерки при потвърждение на АЧК на пазари и изложби и състезания.

След официално потвърждаване на диагнозата, всички заразени и контактни животни трябва да бъдат евтаназирани и обезвредени веднага. Решението за убиване на всички животни на място на територията на заразната зона се взима от Националния център за контрол на заболяването, съгласувано с Регионалния кризисен център. След преместването на всички животни се прави щателно почистване, дезинфекция и дезинсекцияа на пазара.
При положителен или съмнителен случай на АЧК официалния ветеринарен лекар проследява животните напуснали пазара преди неговото пристигане, които са напуснали пазара в резултат на сключване на сделка или са били пренасочени към друг пазар със своите собственици. Извършва се идентификация и проверка на всички превозни средства, които са влезли или излезли от пазара.

Мерки при съмнение или потвърждение на АЧК в гранични ветеринарни инспекционни пунктове

Мерки при съмнение за АЧК в гранични ветеринарни инспекционни пунктове
Когато има съмнения за африканска чума по конете на граничен ветеринарен пункт, цялата пратка трябва да се закара в обект, където няма настанени еднокопитни или в съмнителните помещения на произход, където те ще останат докато се потвърди или изключи наличието на заболяването.

Епизоотичното проучване трябва да се средоточи върху животновъдния обект на произход на съмнителните еднокопитни както при съмнения за заболяване в кланица или пазар за животни.
В случай, че еднокопитните са с чужд произход те се карантинират и се уведомява ветеринарната служба на държавата на произход.

Мерки при потвърждение на АЧК в гранични ветеринарни инспекционни пунктове
Когато се потвърди африканска чума по конете на граничните инспекционни пунктове, всички еднокопитни в пратката трябва да бъдат умъртвени.
Помещенията, оборудването и превозните средства трябва да бъдат дезинфекцирани и дезинсекцирани съгласно инструкциите на официален ветеринарен лекар.
Оперирането на обекта не може да започне по-рано от 24 часа след приключването на почистването, дезинфекцията и дезинфекцията. Обекта ще остане под рестрикции по съображение на БАБХ.
Еднокопитните намиращи се в животновъдния обект на произход на заразените еднокопитне трябва също да се умъртвят.

XIV. Оценка на еднокопитните в инфектиран животновъден обект

Специална комисия извършва оценка на еднокопитните и попълва официалната документация. Комисията се свиква със заповед на Директора на съответната ОДБХ в съответствие с изискванията посочени ЗВД. Оценката на животните във фермата обикновено се извършва преди да бъдат убити. Не се изплаща компенсация за еднокопитни, които са умрели преди да стартира хуманното умъртвяване, но се полага компенсация за животни, убити с диагностична цел. Съществува разработена процедура за обжалване ако има разногласия, относно оценката на животните.При всички случаи ако съществуват разногласия или проблеми, относно оценката на животните, това не трябва да възпрепятства възможно най-бързото убиването на животните в инфектирания обект.

XV. Убиване на еднокопитни

Преди да започне умъртвяването на еднокопитните Регионалния кризисен център трябва да подготви процедурите за безопасното обезвреждане на труповете. Убиването трябва да се извърши по възможно най-бързия начин след потвърждаване на диагнозата като първо се умъртвяват еднокопитните показали клинични признаци на заболяването. ОДБХ трябва да осигури спазването на изискванията на законодателството за хуманно отношение към животните.

XVI. Обезвреждане на трупове

Труповете заразеното стопанство, незабавно се в екарисаж. Възможно е и изгаряне или загробване на труповете на еднокопитните животни в съответствие с изискванията, посочени в Наредба № 22 от 2006 г. за условията и реда за обезвреждане на странични животински продукти и на продукти, получени от тях, и на специфичнорискови материали извън обектите, регистрирани в РВМС (ДВ, бр. 21 от 2006 г.).

Наредба № 20 от 2006 г. за изискванията към дейностите, извършвани на всички етапи от събирането до обезвреждането на странични животински продукти и на продукти,

получени от тях, както и тяхната употреба, пускане на пазара и транзитно преминаване (ДВ, бр. 18 от 2006 г.) отм. ДВ,бр.9/03.02.2005 г.

XVII. Почистване и дезинфекция

Почистването и дезинфекцията трябва да започне веднага след умъртвяването на възприемчивите животни, като отстраняването им от животновъдния обект и трябва да се извърши методично.
Предварително трябва да се отбележат всички повреди на конструкцията на сградите и оборудването, подлежащи на почистване и дезинфекция. Това са площи, с напукани подове и стени или хлабави арматури, които ще изискват специално внимание. Необходимо е изготвянето на списък на съществуващите повреди в помещенията, така че последващи искове за компенсация, възникващи от тези официални дейности, да могат да бъдат лесно решавани. В допълнение трябва да се провери безопасността на електрическата инсталация и предвиди опасността от използване вода за миене. Трябва да се отчетат електромерите и водомерите, така че на собственика да бъде заплатено за използваните ресурси.

XVIII. Правила за дезинсекция при африканска чума по конете

При извършване на дезинсекцията се цели унищожаване на векторите. Тя включва следните мерки:

Мерки срещу преимагиналните стадии на развитие на векторите:
Премахване на биотопите за развитие на ларвите на векторите, чрез отводняване на водоемите със застояла вода (блата, мочурища, канавки, вирове и др.);
Обработване на биотопите, неподдаващи се на мелиорация, с одобрени ларвицидни средства на всеки 10 - 14 дни от април до октомври.

***Мерки за унищожаване на възрастните вектори*:**
Унищожаване на куликоидите в откритото пространство в радиус 5 - 10 км от епизоотичното огнище, чрез опръскване с авиотехника по метода "ултранисък обем" или чрез използване на топъл или студен аерозол и димни шашки - извършва се привечер, нощем или рано сутрин през 10 - 14 дни;
Унищожаване на влетелите в помещенията вектори1 чрез опръскване, димни шашки или обгазяване с топъл или студен аерозол при отсъствието на животните.

Мерки за предотвратяване влитането на вектори в помещенията:
Замрежване на прозорците със ситна мрежа (сечение 1 мм2) и поставяне на допълнителни летящи входни врати от същата мрежа;
Обработка на помещенията отвън с инсектицидни препарати през 10 дни.

Мерки за предпазване от ухапване на еднокопитните животни от вектори чрез третиране на животните с подходящи инсектицидни препарати.

XIX. Ваксинация срещу африканска чума по конете

При изследвания е установено, че животните, които преболедуват развиват стабилен имунитет към повторни инфекции от същия серотип и частичен имунитет към други

серотипове. Бременните и наскоро родилите кобили предават антитела до 6 - 9 месец на своите жребчета посредством кърмата.

За провеждане на активна имунопрофилактика се използват ваксини. Поради наличието на девет серотипа на вируса те биват моно- или поливалентни живи атенуирани или инактивирани клетъчно-културални ваксини. Прилагат се подкожно. Двукратно инжектиране позволява изграждането на стабилен имунитет. След прилагането на ваксината се наблюдава местна реакция от страна на организма с поява на оток, болка и темперираност на мястото на приложение.

Ваксинация с профилактична цел в България не се извършва.

Разрешена е ваксинация след възникване на случай на заболяване. Прилага се единствено в предпазната зона в радиус от 50 км. около огнището. Ваксинацията в наблюдаваната зона е забранена.

XX. Списък с контактни лица

http://bfsa.bg//userfiles/files/ZHOJKF/CP_2018.xlsx