Приложение № 12

ПРОГРАМА
ЗА КОНТРОЛ И НАДЗОР НА НЮКАСЪЛСКАТА БОЛЕСТ (ПСЕВДОЧУМА) ПО ПТИЦИТЕ В РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ ПРЕЗ 2025 – 2027 Г.

Идентификация на програмата

Държава членка: **Република България**

Заболяване: **Нюкасълската болест (псевдочума)**

Период на изпълнение: **2025 – 2027 г.**

За контакт:

отдел „Здравеопазване на животните“,

дирекция „Здравеопазване, идентификация и хуманно отношение към животните”,

Българска агенция по безопасност на храните

бул. „Пенчо Славейков“ 15А

1606, София, България

E-mail: AHW@bfsa.bg

1. Цели на програмата

Настоящата програма цели да се постигне ефективен контрол върху Нюкасълската болест (псевдочума) по птиците, като се следи за наличието и разпространението на вируса на Нюкасълската болест по домашните и диви птици, както и ранно откриване на болестта и събиране на данни за доказване на отсъствие на болестта чрез установяване на активен и пасивен надзор при възприемчиви птици.

2. Елементи на програмата

2.1. Лабораторно изследване на проби за откриване на болестта:

2.1.1 Серологично изследване на кръвни проби от:

2.1.1.1 неваксинирани срещу Нюкасълска болест домашни птици от кокошевия вид

2.1.1.2 домашни водоплаващи птици;

2.1.1.3 птици, развъждани и използвани за лов (жив пернат дивеч - фазани, яребици, пъдпъдъци, полудиви патици и т.н.);

2.1.1.4 домашни и диви гълъби;

2.1.1.5 прелетни (мигриращи) птици;

2.1.1.6 екзотични птици, отглеждани във ферми или в клетки на територията на страната (щрауси, папагали и др.);

2.1.1.7 всички видове вносни птици – кокошеви, водоплаващи, екзотични;

2.1.1.8 птици от зоопарковете;

2.1.1.9 за контрол на извършената ваксинация в промишлените ферми.

2.1.2. Вирусологично изследване за хемаглутиниращи вируси на следните видове и категории птици:

2.1.2.1 пресни трупове от домашни птици от различни видове, категории и възрасти, умрели и/или убити с диагностична цел, проявяващи характерни признаци от страна на дихателната, кръвоносната, нервната или храносмилателната система за Нюкасълска болест;

2.1.2.2 домашни и полудиви водоплаващи птици, отглеждани на открито;

2.1.2.3 внесени от трети страни кокошеви, водоплаващи и екзотични птици, както и на трупове от същите, умрели по време на транспорта и до две седмици след това;

2.1.2.4 птици, отглеждани в зоопарковете, особено от водоплаващите и крайбрежните птици, както и пресни трупове от такива;

2.1.2.5 пресни трупове от птици, събрани от резерватите;

2.1.2.6 диви птици – от районите на „влажните зони“, езерата, язовирите и поречията на реки, обхващащи миграционните пътища и местата за почивка и гнездене. Видов състав на пробите – 70% водоплаващи, 20% крайбрежни и 10% други птици;

2.3. Клинични обследвания на възприемчиви птици;

2.4. Мерки за ликвидиране на болестта, съгласно заповед на изпълнителния директор на БАБХ.

3. Институции и организации, отговорни за изпълнението на програмата

3.1. Българска агенция по безопасност на храните

3.1.1. ЦУ на БАБХ

Дирекция „Здравеопазване, идентификация и хуманно отношение към животните“:

3.1.1.1 Разработва проект на надзорна програма за Нюкасълска болест;

3.1.1.2 Проследява епизоотичната обстановка в съседни държави, анализи и доклади, заключения от оценки на риска, изготвени от съответни институции;

3.1.1.3 Събира и анализира данните за птиците, изследвани за Нюкасълска болест;

3.1.1.4 Обобщава данните за положителните обекти;

3.1.1.5 Контролира и анализира изпълнението на надзорната програма и при необходимост въвежда изменения;

3.1.1.6 Докладва при необходимост до Европейската комисия или други институции за изпълнението на програмата, съгласно изискванията за докладване на ЕК.

Дирекция „Контрол на фуражите и странични животински продукти“ :

3.1.1.7 изяснява движението на странични животински продукти (вкл. на технически животински продукти) от и към заразеното населено място, идентифицира местонахождението им и участва в унищожаването им.

Дирекция „Контрол на ветеринарни лекарствени продукти“

Осъществява контрол на използваната ваксина.

3.1.2. Областни дирекции по безопасност на храните

3.1.2.1 Контролират и прилагат изпълнението на Програмата за надзор на регионално ниво;

3.1.2.2 Събират и анализират данните за птиците от региона, изследвани за Нюкасълска болест;

3.1.2.3 Обобщават данните за позитивните животни;

3.1.2.4 Водят регистър в базата данни за всички обекти;

3.1.2.5 Поддържат списъци на обектите (различни от промишлени) за отглеждане на птици в селищата попадащи в 10 км. зона около промишлените обекти в областта;

3.1.2.6 Предоставят гореспоменатите списъци на собствениците/ползвателите на индустриални птицевъдни обекти и уведомяване за задълженията им по ваксинацията на птиците в тези обекти;

3.1.2.7 Контролират изпълнението на задължението на собствениците/ползвателите на индустриални птицевъдни обекти за извършване ваксинация на птици, отглеждани в селищата попадащи в 10 км. зона около промишлените обекти;

3.2. Български ветеринарен съюз (БВС)/регистрирани ветеринарни лекари:

3.2.1 Съдейства при разработването и актуализирането настоящата програма, съгласно епизоотичната обстановка, анализ на получените данни, популационни промени, настъпили в хода на изпълнението на програмата и др. фактори, влияещи върху нея;

3.2.2 Съгласно разпореждания на БАБХ извършват ваксинация;

3.2.3 Извършват клинични прегледи на ваксинирани животни;

3.2.4 Докладват за съмнение за възникване на болестта и за възникване на неблагоприятни ефекти вследствие на прилагане на ваксината;

- Съдействат при прилагане на мерки в случай на констатиране на болест.

3.3. Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт (НДНИВМИ)

Изследването на пробите се извършва в Националната Референтна Лаборатория за Инфлуенца и Нюкасълска болест към Националния диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт (НДНИВМИ), София.

Ежемесечно Националната Референтна Лаборатория за Инфлуенца и Нюкасълска болест по птиците изпраща информация в Дирекция ЗХОЖ към БАБХ за изследваните проби по програмата.

Всички положителни резултати от вирусологичните изследвания трябва бъдат изпратени до Референтната лаборатория на Европейската Общност за инфлуенца и Нюкасълска болест по птиците.

4. Териториален обхват

4.1. Описание на географските и административни райони, в които ще бъде изпълнена програмата:

Програмата ще бъде изпълнявана на територията на всички 28 административни

области на страната. В Таблица 1 в т. 5.3. е представена схема за вземане на проби по региони.

Заболяването подлежи на обявяване по чл. 18-23 от Регламент (ЕС) 2016/429 и Закона за ветеринарномедицинската дейност (ЗВД).

Информация относно приложимите мерки на ниво ЕС е налична на следния линк: https://ec.europa.eu/food/animals/animal-diseases/diseases-and-control-measures/newcastle-disease_en

4.2. **Целеви животни и популации:**

4.2.1 домашни птици от кокошевия вид;

4.2.2 домашни и полудиви водоплаващи птици;

4.2.3 птици, развъждани и използвани за лов (жив пернат дивеч- фазани, яребици, пъдпъдъци, полудиви патици и т.н.);

4.2.4 домашни и диви гълъби;

4.2.5 прелетни /мигриращи/ птици;

4.2.6 екзотични птици, отглеждани във ферми или в клетки на територията на страната (щрауси, папагали и др.);

4.2.7 внесени от трети страни кокошеви, водоплаващи и екзотични птици;

4.2.8 птици, отглеждани в зоопарковете и природни паркове и резервати;

4.2.9 диви птици - от районите на „влажните зони“, езерата, язовирите и поречията на реки, обхващащи миграционните пътища и местата за почивка и гнездене в следните отношения – 70% водоплаващи, 20% крайбрежни и 10% други птици.

5. Проби, схема за пробовземане и използвани лабораторни диагностични методи

5.1. **Тип проби:**

5.1.1. **За серологичните изследвания** се вземат и изпращат за изследване кръвни проби от клинично здрави птици съгласно Приложение II.

5.1.2. **За вирусологичните изследвания** се вземат и изпращат проби за изследване от

5.1.2.1 Домашни птици - изпращат се в случаите, в които не може да бъде изключено заболяването Нюкасълска болест (внезапна и бърза смъртност, характерни клинични признаци и патологични изменения);

5.1.2.2 Диви птици - от районите на езерата, язовирите и поречията на реки, обхващащи миграционните пътища и местата за почивка и гнездене. Видов състав на пробите – 70% водоплаващи, 20% крайбрежни и 10% други птици. Пробите от диви птици обхващат умрели птици (съвсем пресни трупове), отстреляни птици,

а също и заловени птици с цел маркиране, типизиране, огледи и др., които след вземане на проба се освобождават;

5.1.2.3 Птици, отглеждани на открито - вземат се предвид посочените цифри, пробите могат да се вземат в кланицата и включват вътрешни органи или клоакални тампон-проби;

5.1.2.4 Период на пробовземане - проби от диви птици се изпращат в сезона на прелета, а от домашните целогодишно.

5.1.3. **Вид проби за вирусологично изследване:**

5.1.3.1 Цели трупове – взимат се от птици, умрели преди не повече от 4 часа, като пробите са охладени при незабавно изпращане, или замразени при забавяне на изпращането;

5.1.3.2 Органни проби – взимат се от: умрели или заклани птици (черен дроб, далак, бял дроб, трахея, бъбрек), приготвени като обща проба в стерилен плик, стерилна петриева паничка или друг стерилен стъклен съд или в отделни стерилни пликчета от всяка птица;

5.1.3.3 Клоака с части от черва със съдържание като отделна от вътрешните органи сборна проба;

5.1.3.4 Глава с шия опаковани в отделен плик;

Клоакални тампон-проби – вземат се от живи или прясно убити птици със стерилен тампон, който се въвежда дълбоко в клоаката на птицата и енергично се остъргва стената на червото. Тампонът трябва добре да се напои със клоакално съдържание. След това той се потапя в транспортната среда на контейнера придружаващ стерилния тампон, които се затваря добре. За изследване в лабораторията не се изпращат клоакални тампон-проби без транспортна среда, която задължително трябва да бъде за вирусологично изследване.

Трахеални тампон-проби - получават се от живи птици чрез въвеждане на сух памучен тампон в трахеята и внимателно остъргване на стената, след което тампонът се поставя контейнер с транспортна среда.

Фекални проби - вземат се съвсем пресни, влажни изпражнения, в които се потапя тампон и добре напоен с тях се поставя в контейнер с транспортна среда. Пробите се изпращат веднага до лабораторията, поставени в контейнер с лед. Ако не е възможно незабавното им изпращане, могат да се държат на 0 - 4°C за 48 - 72 часа, а за по-дълъг период - на -70°C.

За вирусологично изследване трябва да се имат предвид видовете и категории птици, посочени в програмата.

5.2. **Брой на пробите:**

Той се определя съобразно епизоотичната обстановка в страната в момента, броя птицевъдните обекти и броя места, посещавани от прелетните птици. Целта е да се вземат достатъчно брой проби за да се открие, ако има макар и едно болно животно в популацията.

В настоящата програма е предвиден определен брой проби за изследване, като са взети предвид рисковите райони и групи птици. В случай на промяна на епизоотологичната обстановка, броят на пробите също подлежи на промяна, като последните се завишават.

Подробното описание на броя проби по селища и вид изследване (серологично или вирусологично) е посочено в Таблица 1. В приложение I са посочени критериите за определяне на броя на пробите. При определяне на броя на животновъдните обекти, вкл. И лични стопанства от които трябва да бъдат взети проби се спазва изискването да бъдат обхванати 99% от животновъдните обекти в населените места: /промишлени ферми, малки ферми с търговска цел и обекти тип лично стопанство, в които се отглеждат птици за собствена консумация/.

При определяне на броя на пробите за вземане и изпращане за изследване се спазва изискването посочено в таблицата Приложение I при 95 % достоверност на резултатите и 10 % разпространение на вируса на заболяването.

При взимане и изпращане на проби от птицекланици се спазва изискването: от всяка постъпваща за клане партида се определя броя на пробите съгласно таблицата за 95% достоверност и 10% разпространение на вируса на заболяването, посочена в приложение № 1.

Честотата за провеждане на надзора в критичните точки трябва да бъде определена индивидуално в зависимост от специфичните особености на всяка една от тях (източници на инфекцията, начин на предаване, движещи сили на инфекциозния процес, инкубационен период, природни резервоари, климатични фактори, сезон, стопански дейности, период на миграция на птиците и др.

Режимът на надзор в останалите части от страната, които се считат с по-ниска степен на риск може да бъде с по-малка интензивност.

При изпълнение на настоящата програма е необходимо да се обръща внимание на индикатори като:

5.2.1 броя и честотата на извършените проверки на животновъдните обекти и местата на обитаване на дивите птици за месеца в дадения регион, броя на посетените обекти, броя на прегледаните животни, констатирани случаи на смъртност и заболявания, промени в поведението на мигриращите птици;

5.2.2 регистрираните за месеца болести, наблюдаваните клинични симптоми, вида и броя на засегнатите животни вида и броя на изпратените проби за лабораторни изследвания и резултатите от тях;

5.2.3 регистрираните случаи на съмнение за дадена болест и процента на лабораторно потвърдените случаи;

5.2.4 времето за реакция от подаването на сигнала при съмнение за заболяване, налагането на ограничителните мерки, вземането и изпращането на проби за лабораторно изследвани до потвърждаването или отхвърлянето на диагнозата;

5.2.5 осъщественото движение на птици и продукция за периода, предхождащ клиничните признаци характерни за заболяването или периода предхождащ получените положителни серологични резултати.

5.3. **Схема за пробовземане по региони:**

Схема по области за изпращане на **кръвни проби** за серологично изследване от различни видове птици за лабораторен надзор срещу Нюкасълска болест (НБ). Програмата включва изследване срещу Нюкасълска болест само на неваксинирани птици или при съмнение за неправилно извършена ваксинация. Там където са посочени бройки за кокошки, вместо това може да се взема кръв и от пуйки. Пробите от кокошеви птици и от водоплаващи птици да се изпращат с отделни писма. Вземането на проби трябва да съвпада с периода на прелет на птиците.

Пробите от 1 селище трябва да включват най-малко 3 различни двора.

Таблица 1: Схема за вземане на проби за изследване за Нюкасълска болест по региони

№	Област	Селище/ Ферма	Вид птици, брой проби	Вид изследване	Изпращане през месеци	Общ брой проби
1.	Благоевград	10 селища	Водоплаващи - по 20 от селище	НБ	I - XII	200
2.	Бургас	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
3.	Варна	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
4.	Велико Търново	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
5.	Видин	10 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	300
6.	Враца	10 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	300
7.	Габрово	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
8.	Добрич	10 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	300
9.	Кюстендил	10 селища	Водоплаващи - по 20 от селище	НБ	I - XII	200
10.	Кърджали	20 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	600

11.	Ловеч	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
12.	Монтана	10 селища	Водоплаващи - по 20 от селище	НБ	I - XII	200
13.	Пазарджик	6 ферми за угояване на патици – мюлари	по 30 от ферма, от 2 партиди	НБ	I - IV X - XII	360
14.	Перник	5 селища	Водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	50
15.	Плевен	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
16.	Пловдив	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, ферми водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
17.	Разград	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
18.	Русе	5 селища	водоплаващи - по 20 от селище	НБ	I - XII	100
19.	Силистра	От 5 селища около Сребърна	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - IV X - XII	150
20.	Сливен	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
21.	Смолян	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
22.	София - град	Зоопарк	Диви и екзотични птици - поне по 5 проби от всяка клетка и волиера и от всички новопристигнали	НБ	I - XII	20
23.	София-област	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
24.	Стара Загора	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
25.	Търговище	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
26.	Хасково	От 3 селища около яз. Тракиец	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - IV X - XII	90
27.	Шумен	5 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	150
28.	Ямбол	2 селища	Кокошки - по 20 от селище, водоплаващи - по 10 от селище	НБ	I - XII	60
	От всички зоопаркове в страната, където се отглеждат птици - поне по 5 проби от всяка клетка и волиера					100
	От всяка вносна екзотична птица					
ОБЩ БРОЙ ПРОБИ ЗА НЮКАСЪЛСКА БОЛЕСТ						**4680**

Съпроводително писмо:

Всички изпращани до Националната Референтна лаборатория проби се съпровождат с писмо по образец, одобрено със заповед на изпълнителния директор на БАБХ.

5.4. **Използвани лабораторни диагностични методи**

Диагностиката се провежда по следните методики:

5.4.1 Изолиране на вирус в кокоши ембриони по стандартните процедури на пробие от трупове, вътрешни органи и фекалии, клоакални и трахеални тампон проби.

5.4.2 Идентификация на изолиран вирус чрез реакция задържане на хемаглутинацията.

5.4.3 Откриване на нуклеиновата киселина на вируса на Нюкасълската болест чрез Обратно-транскиптазна полимеразно-верижна реакция в реално време.

5.4.4 Серологичен мониторинг на птиците на територията на Република България за наличие на антитела срещу Нюкасълска болест чрез РЗХА и ЕЛАЙЗА.

6. Ваксинация, ваксинационна схема, използвана ваксина

Изпълняват се следните имунопрофилактични мероприятия срещу Нюкасълска болест:

6.1 задължителна поголовна ваксинация на кокошки-носачки, родителски стада и бройлери, фазани, пуйки и спортни гълъби и гълъби за представления, на основание чл. 5 от Наредба № 31 от 29.12.2005 г., във всички индустриални птицевъдни обекти в страната, регистрирани, съгласно ЗВД и на птиците отглеждани в селищата попадащи в 10 км. зона около индустриални обекти за сметка на собствениците на индустриални птицевъдни обекти **(при ваксинация на птиците в 10 км. зона около промишлените обекти, стойността на ваксината и приложението й от регистрирани ветеринарни лекари се заплащат от собствениците на промишлените обекти)**;

6.2 ваксинация на 1-вия ден на еднодневни бройлери в люпилните в страната **(за сметка на собствениците на люпилните)**, регистрирани, съгласно ЗВД на всички категории птици, извършена от ветеринарен лекар, сключили договор със собственика на птицевъдния обект или люпилня съгласно одобрената от директора на съответната Областна дирекция по безопасност на храните (ОДБХ) по схема, представена от собственика на птицевъдния обект или люпилнята;

6.3 ваксинация с инжективна векторна ваксина и жива ваксина, под формата на спрей;

6.4 реваксинация на пернатият дивеч, отглеждан във ферми (волиери) с ваксина “лентогенен” щам, съгласно указанията на фирмата производител, две седмици преди разселването му;

6.5 реваксинация на спортните гълъби и тези, предназначени за състезания и изложби с “инактивирана” ваксина на 4 седмична възраст и реваксинация 4 до 6 седмици преди започване на състезателния сезон или мероприятието, в което ще участват.

6.6 контрол на имунния статус на ваксинираните птици, 15-20 дни след ваксинацията, като от всяко ваксинирано стадо задължително се вземат и изследват от 20 до 40 броя кръвни проби за контрол на напрежението на имунитета и контрол на извършената ваксинация.

В официалния регистър по чл.7, ал. 3, т. 14 на ЗВД са вписани разрешените ваксини. Ваксинацията срещу Нюкасълска болест по птиците се извършва само с разрешение в страната "лентогенни" ваксини. Освен едновалентни ваксини срещу Нюкасълска болест /псевдочума/ по птиците може да се използват и комбинирани поливалентни ваксини, разрешени в Република България. Стойността на ваксината и разходите за прилагането й са за сметка на собствениците на промишлените птицевъдни обекти.

Ваксинация срещу Нюкасълската болест по птиците (кокошки, бройлери, фазани, пуйки, спортни гълъби и гълъби за представление) се извършва в селищата попадащи в 3 и 10 км зона при констатирано огнище на заболяването, след писмено разпореждане от ЦУ на БАБХ.

Разходите за закупуване на ваксина и приложението в случай на епизоотично огнище и за вземане и изпращане на проби за лабораторен анализ и стойността на лабораторните изследвания са за сметка на ДФ Земеделие съгласно нотифицираната от ЕК схема за държавна помощ на земеделските стопани в размер посочен в Тарифата по чл.46в от ЗВД.

7. Измерими цели за постигане в периода за изпълнение на мерките в програмата:

Показател (за цялата страна)	2025	2026	2027
Общ брой изследвани проби по региони	4680	4680	4680
Констатирани огнища на Нюкасълска болест	0	0	0

8. Полезни връзки:

https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/

9. Исторически и епизоотологични данни за заболяването.

https://bfsa.egov.bg/wps/portal/bfsa-web/activities/animal.health.and.welfare/animal-health/current.information.on.animal.diseases

ПРИЛОЖЕНИЕ I

Определяне на доверителната граница (95% или 99%) и очаквания процент на разпространение на болестта сред популацията от възприемчиви животни, за изчисление броя на пробите, които ще се изследват.

Определяне броя на необходимите проби за откриване на поне едно серопозитивно животно в заразеното стадо при 95% гаранционна вероятност.

Големина на стадото (n)	Процент на разпространение на заболяването в стадото (d/n)											
	50 %	40 %	30 %	25 %	20 %	15 %	10 %	5 %	2 %	1%	0,5 %	0,1 %
10	4	5	6	7	8	10	10	10	10	10	10	10
20	4	6	7	9	10	12	16	19	20	20	20	20
30	4	6	8	9	11	14	19	26	30	30	30	30
40	5	6	8	10	12	15	21	31	40	40	40	40
50	5	6	8	10	12	16	22	35	48	50	50	50
60	5	6	8	10	12	16	23	38	55	60	60	60
70	5	6	8	10	13	17	24	40	62	70	70	70
80	5	6	8	10	13	17	24	42	68	79	80	80
90	5	6	8	10	13	17	25	43	73	87	90	90
100	5	6	9	10	13	17	25	45	78	96	100	100
120	5	6	9	10	13	18	26	47	86	111	120	120
140	5	6	9	1 1	13	18	26	48	92	124	139	140
160	5	6	9	1 1	13	18	27	49	97	136	157	160
180	5	6	9	101	13	18	27	50	101	146	174	180
200	5	6	9	11	13	18	27	51	105	155	190	200
250	5	6	9	11	14	18	27	53	112	175	228	250
300	5	6	9	11	14	18	28	54	117	189	260	300
350	5	6	9	11	14	18	28	54	121	201	287	350
400	5	6	9	11	14	19	28	55	124	211	311	400
450	5	6	9	11	14	19	28	55	127	218	331	450
500	5	6	9	11	14	19	28	56	129	225	349	500
600	5	6	9	11	14	19	28	56	132	235	379	597
700	5	6	9	11	14	19	28	57	134	243	402	691
800	5	6	9	11	14	19	28	57	136	249	421	782
900	5	6	9	11	14	19	28	57	137	254	437	868
1000	5	6	9	11	14	19	29	57	138	258	450	950
1200	5	6	9	11	14	19	29	57	140	264	471	1102
1400	5	6	9	1 1	14	19	29	58	141	269	487	1236
1600	5	6	9	11	14	19	29	58	142	272	499	1354
1800	5	6	9	11	14	19	29	58	143	275	509	1459
2000	5	6	9	11	14	19	29	58	143	277	517	1553
3000	5	6	9	11	14	19	29	58	145	284	542	1895
4000	5	6	9	11	14	19	29	58	146	288	556	2108
5000	5	6	9	11	14	19	29	59	147	290	564	2253
6000	5	6	9	11	14	19	29	59	147	291	569	2358
7000	5	6	9	11	14	19	29	59	147	292	573	2437
8000	5	6	9	11	14	19	29	59	147	293	576	2498
9000	5	6	9	11	14	19	29	59	148	294	579	2548
10000	5	6	9	11	14	19	29	59	148	294	581	2588
oo	5	6	9	11	14	29	29	59	149	299	598	2995

Определяне броя на необходимите проби за откриване на поне едно серопозитивно животно в заразеното стадо при 99% гаранционна вероятност.

Големина на стадото	Процент на разпространение на заболяването в стадото (d/n)											
	50	40	30	25	20	15	10	5	2	1	0,5	0,1 %
10	5	6	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10
20	6	8	10	11	13	15	18	20	20	20	20	20
30	6	8	11	13	15	19	23	30	30	30	30	30
40	7	8	11	13	16	21	27	36	40	40	40	40
50	7	9	12	14	17	22	29	42	50	50	50	50
60	7	9	12	14	18	23	31	47	60	60	60	60
70	7	9	12	15	18	24	33	51	68	70	70	70
80	7	9	12	15	19	24	34	54	76	80	80	80
90	7	9	12	15	19	25	35	57	83	90	90	90
100	7	9	13	15	19	25	36	59	00	100	100	100
120	7	9	13	15	19	26	37	63	102	118	120	120
140	7	9	13	16	20	26	38	67	113	135	140	140
160	7	9	13	16	20	26	39	69	122	151	160	160
180	7	9	13	16	20	27	39	71	129	166	179	180
200	7	9	13	16	20	27	40	73	136	180	198	200
250	7	9	13	16	20	27	40	76	150	210	244	250
300	7	9	13	16	20	27	41	78	160	235	286	300
350	7	9	13	16	21	28	42	80	168	256	325	350
400	7	9	13	16	21	28	42	81	174	273	360	400
450	7	9	13	16	21	28	42	82	179	288	392	450
500	7	9	13	16	21	28	42	83	183	300	421	500
600	7	9	13	16	21	28	43	84	190	321	470	600
700	7	9	13	16	21	28	43	85	195	336	512	700
800	7	9	13	16	21	28	43	85	199	349	546	798
900	7	9	13	16	21	28	43	86	202	359	576	895
1000	7	9	13	16	21	28	43	86	204	368	601	990
1200	7	9	13	16	21	28	43	87	208	381	642	1175
1400	7	9	13	16	21	2	44	87	211	391	674	1348
1600	7	9	13	16	21	29	44	88	213	399	699	1510
1800	7	9	13	16	21	29	44	88	215	405	720	1661
2000	7	9	13	16	21	29	44	88	216	410	737	1800
3000	7	9	13	16	21	29	44	89	220	425	792	2353
4000	7	10	13	16	21	29	44	89	222	433	821	2735
5000	7	10	13	16	21	29	44	89	223	438	840	3009
6000	7	10	13	16	21	29	44	90	224	442	852	3214
7000	7	10	13	16	21	29	44	90	225	444	861	3373
8000	7	10	13	16	21	29	44	90	225	446	868	3500
9000	7	10	13	16	21	29	44	90	226	447	874	3604
10000	7	10	13	16	21	29	44	90	226	448	878	3689
oo	7	10	13	16	21	29	44	90	228	459	919	4603

Избира се таблицата със съответно ниво на доверие (95 % или 99 %), след което по колоната, отговаряща на очаквания процент на инфектираните животни, и по колоната за големината на стадото се определя броят на необходимите проби.

1. **Съображения при определяне големината на извадката (броя на пробите)**

Решението за необходимия брой проби трябва да се вземе, имайки предвид следните фактори:

- Точността, която се изисква (90%, 95% или 99% доверителен интервал);
- използвания метод на изследване (чувствителност и специфичност);
- размерът на най- малката подгрупа и действителното отклонение на различните варианти (подгрупи) спрямо средната стойност за популацията;
- теоремата за основните ограничения от теорията за пробовземането, която казва, че при голям брой проби разпределението на стойностите в представителната извадка ще е близко до това на популацията от която е взета. Доверителния интервал може да се изчисли с 90% сигурност с отклонение от средната стойност (в двете посоки на махалото) +/- 1.65 (т.нар. стандартна грешка) или при 95% сигурност с отклонение от средната стойност +/- 1.96 (стандартна грешка), а при 99% сигурност с отклонение от средната стойност +/- 2.58 (стандартна грешка).

Доверителният интервал се тълкува, като например при 90% или 95% или пък 99% съответно 90, 95 или 99 от случаите на 100 проби взети от прицелната популация ще съдържат истинските стойности за тази популация и ще са в доверителните граници.

2. **Опростен метод за определяне на необходимия брой проби за откриване на дадена болест в голяма популация**

Съществува опростен метод за определяне броя на необходимите проби за откриване на дадена болест в животинската популация, както и възможния брой на заболелите животни, които са пропуснати и останали неразкрити при вземането на пробите. В случая когато се касае за 95% доверително ниво, метода е познат като "правилото на тройката". При него за определяне на необходимия брой проби за изследване (т.нар. представителна извадка за стадото, групата или популацията), с цел да се открие заболяването в дадено стадо или популация, числото 300 се дели на очакваното разпространение.

Пример. Ако искаме да използваме опростената формула за изчисляване броя на пробите необходими за откриване заболяване в стадо от 500 птици, при очаквано разпространение на болестта в стадото 25%, трябва просто да разделим **300** : 25 = **12**. Това е минималния брой проби необходим за да ни даде 95% сигурност, че в изследваното стадо не е проникнала болестта. При доверително ниво 99%, числото 300 трябва да се замени с 460 (т.е. **460** : 25 = **18,4),** а при 99,99% с числото 690 **(690** : 25 = **27,6).**

ПРИЛОЖЕНИЕ II

ИНСТРУКЦИЯ
ЗА ВЗЕМАНЕ, СЪХРАНЕНИЕ И ИЗПРАЩАНЕ НА КРЪВНИ ПРОБИ ОТ ПТИЦИ

Кръв може да бъде взета от шийната/югуларна вена (отдясно на шията на птицата- снимка 11), брахеалната/крилна вена (сн.10) или средната метатарзална вена (вена на крака- сн. 12), като се използва 22 G , 23 G, 25 G, или 27 G подкожни игли или игла тип "пеперуда" и 12 мл., 10 мл., 6 мл., 3 мл. или 1 мл. спринцовки, в зависимост от размера на птицата и количеството на кръвта, необходимо да бъде взето.

По принцип е безопасно да се взема по 0.3-0.6 СС кръв на 100 грама на телесна маса от живи птици, обаче, винаги е най-добре да се взема само количеството, кръв което е достатъчно за лабораторния анализ.

Ако трябва да бъдат изследвани кръвни проби, като допълнение към надзора на болестта, е препоръчително да се използват игли с лумен 22 G. Игли с лумен 25 G, 27 G или по-малки увреждат клетките и те могат преминават през игла с този тесен диаметър.

След като е взета кръвта на мястото на пункция на вената се поставя марля и се притиска с пръсти до спиране на кървенето (30-60 секунди).

Веднага след вземането на кръвта тя трябва да бъде прехвърлена във вакуум контейнер за отделяне на серум (с червена капачка) или плазма (зелена капачка) (някои лаборатории предпочитат отделен серум, докато други предпочитат плазма в зависимост от тестовете, които се извършват – това трябва да бъде проверено преди вземането на проби). Плазмените контейнери трябва да се поставят веднага в хладилник или на хладна водна баня, докато бъдат центрофугирани. Серумните проби трябва да бъдат оставени да се съсирят при стайна температура, след което се поставят в хладилник или в хладна водна баня, докато бъдат центрофугирани. След центрофугирането, серума или плазмата трябва да трябва да бъдат внимателно отделени в "Cryovial" със стерилни пипети.

Всяка проба трябва да бъде етикетирана по подходящ начин.



Снимка10. Пункция на крилна вена



Снимка 11. Пункция на вена югуларис



Снимка12. Вземане на кръв от средната метатарзална вена



Снимка 13. Поставяне на кръвта във вакуум контейнер с ЕДТА

Транспортиране на пробите:

Специално внимание трябва да се обърне при съхранението и транспортирането на пробите до лабораторията за изследване.

Тампонните проби трябва да бъдат охладени незабавно, поставяйки ги върху лед или в опаковки със замразен гел и да бъдат изпратени в лабораторията, възможно най-бързо. Пробите не трябва да бъдат замразени, освен ако не е абсолютно необходимо. Ако не е осигурен бърз превоз в рамките на 24 часа до лабораторията, пробите трябва да бъдат незабавно замразени, съхранени и транспортирани в сух лед. В допълнение, а не като алтернатива на охлаждане, тампоните трябва да бъде поставен в антибиотик или специфична транспортна среда на 4 °C, така че да бъдат напълно потопени.

При липса на такава среда, тампоните трябва да бъдат транспортирани сухи в техните опаковки и да се изпратят до лаборатория за изследване.

Съхранението и транспортирането на пробите може да бъде възпрепятствано от множество фактори, така че избора на транспорта трябва да бъде съобразен с тези фактори.

Забележка: Уведомете служител на лабораторията, че са изпратени проби, начина на транспортиране и очакваното време за пристигането им.