https://doi.org/10.52326/ismv2024.32
CZU: 619:616.98:578.824.11-085.371

EFICIENȚA IMUNOLOGICĂ POSTVACCINALĂ ÎMPOTRIVA RABIEI LA VULPE PRIN DETECȚIA ANTICORPILOR ANTIRABICI POSTVACCINALI PRIN TEHNICA IMUNOENZIMATICA INDIRECTĂ (ELISA) ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Maxim SÎRBU, Nicolae STARCIUC
Universitatea Tehnică a Moldovei

Abstract. The purpose of the conducted research was to establish the post-vaccination effectiveness of immunized foxes with vaccines applied as baits to reduce the incidence of rabies in wildlife from the territory of the Republic of Moldova. Vaccination was carried out as part of the national program of prophylactic vaccination in the period 2020-2023, by the aerial distribution method of the "Lisvulpen" vaccine, produced by the company Bioveta, Czech Republic.

The samples taken from the shot foxes (Vulpes vulpes) were sent for investigation to the Sanitary-Veterinary and Food Safety Laboratory, from Iasi, Romania, unique Laboratory Code RO213-ANSVSA. As samples for the research were fragments of the mandible (bone + teeth), thoracic fluid and brain samples. The samples were coded individually, the unique code, mandatory presentation of information such as: the age category of the animal, the place of sampling (district, locality), the place where the foxes were shot, the GPS coordinates (latitude and longitude), the origin of the samples (forest bypass, association by hunters).

The research results showed that from the total of 65 thoracic fluid samples taken from the youth, 18 thoracic fluid samples showed the presence of post-vaccination antibodies and 47 negative samples for the presence of post-vaccination antibodies, which constitute 27.69% of the samples with the presence of antibodies. At the same time, from the total of 101 thoracic fluid samples taken from adult foxes, 34 samples showed the presence of post-vaccination antibodies and 67 negative samples, which constitute 33.66% of the results of the presence of antibodies.
Keywords: fox, vaccine, rabies, post-vaccination antibodies, efficacy, samples.

INTRODUCERE

Rabia rămâne în continuare o amenințare globală gravă, fiind inclusă în lista bolilor tropicale neglijate a Organizației Mondiale a Sănătății și dată fiind importanța sanitară și economică a zoonozei, aceasta necesită o coordonare trans-sectoriala strânsă la nivel regional, național și global.

Numeroase organizații luptă pentru eliminarea rabiei, în acest sens Organizația Mondială a Sănătății (WHO) alături de Organizația Mondială a Sănătății Animalelor (WAHO), Organizația pentru Alimentație și Agricultură a Națiunilor Unite (FAO) și Alianța Globală pentru Controlul Rabiei stabilind un obiectiv global „mortalitate zero a rabiei umane până în anul 2030.

Instituirea unor programe intensive prin distribuția de momeli vaccinale ce a vizat rezervorul silvatic vulpea, a dus în ultimele decenii la eradicarea rabiei în Europa, singurele metode eficiente în a întrerupe ciclul infecțios între animale și oameni fiind reprezentate de către vaccinarea în masă al animalelor de companie și vaccinarea orală a vulpilor.

Rabia este una dintre cele mai grave zoonoze, ce afectează toate animalele homeoterme și omul, fiind produsă de un virus neurotrop din ordinul Mononegavirales, familia Rhabdoviridae, genul Lyssavirus (OIE, 2013; OMS, 2017(c)), ce se caracterizează prin grave tulburări nervoase și agresivitate, înregistrând o letalitate de 100%.

Vaccinarea animalelor sălbatice s-a dovedit a fi cea mai eficienta metoda de combaterea și supraveghere a rabiei și eficacitatea maximă fiind atinsă atunci când se vaccinează zone întregi infectate pe perioade lungi (Baker et al., 2019; Robardet et al., 2016). Astfel, prin desfășurarea de campanii de vaccinare regulate, care acoperă suprafețe extinse, a devenit posibilă reducerea drastică a numărului de cazuri de rabie în Europa de Vest și Centrală pentru a ajunge la mai puțin de 10 cazuri pe an la apropierea anului 2020 (Robardet et al., 2019). Programele de vaccinare sunt armonizate și se bazează pe ghiduri științifice standardizate (Comisia Europeană, 2002, 2015; Panelul EFSA AHAW, 2015).

MATERIAL ȘI METODE

Ca materiale pentru cercetare au servit fauna sălbatică din Republica Moldova, reprezentatră de vulpi și tuplinile vaccinale destinate pentru aplicare. Cercetările întreprinse în cadrul acestui program au urmărit detecția anticorpilor antirabici postvaccinali prin metoda ELISA.

Campania de vaccinare a fost desfășurată de două ori pe an, primăvara și toamna, folosind aeronave cu aripi fixe și distribuirea momelilor vaccinale cu o densitate de 20–30 de momeli pe km 2 . Momelile au fost distribuite printr-o metoda planificată conform liniilor de zbor, cu cel mult 500 m între liniile de zbor.

Țara noastră a pus în aplicare acest program începând cu anul 2020, verificarea și monitorizarea eficacității vaccinării antirabice în rândul animalelor fiind realizate prin intermediul testului serologic.

Vulpile analizate în cadrul studiului au fost colectate în cadrul programului național de vaccinare orală împotriva rabiei (în continuare VOR) derulate în Republica Moldova, pentru eradicarea, controlul și supravegherea rabiei, fiind colectate prin vânătoare, aleatoriu, în cadrul zonei vaccinate cu o țintă de 4 vulpi la 100 km2 pe campanie.

Numărul de vulpi colectate și analizate în final pe țară și pe an a variat de la 0,5 la 100 km2 pentru probele serologice. Vulpi vânate în zonele de vaccinare au fost folosite pentru evaluarea VOR. Aceste procese de eșantionare au fost realizate în conformitate cu legislația și în

conformitate cu recomandările instituțiilor internaționale (WOAH (WHO, 2018), EFSA (EFSA AHAW Panel, 2015)). Programele și eșantionare a vulpilor au fost realizate și cofinanțate conform Regulamentului (UE) nr. 652/2014 (Parlamentul European și al Consiliului, 2014).

Probele pentru cercetare, prin cerere de analiza au fost transmise către Laboratorul Sanitar-veterinar și pentru siguranța alimentelor Iași cod unic Laborator RO213-ANSVSA prelevate de la vulpi împușcate și care au fost supuse vaccinării prin distribuirea aeriană a vaccinului LYSVULPEN producător Bioveta Cehia.

Probele care au fost investigate prin analizele constau din fragmente mandibula (os + dinți), lichid toracic și creier. Pentru fiecare probă s-a atribuit un cod unic, cu indicarea categoriei de vîrstă a animalului (tineret sau adult), locul prelevării probelor (Raion, Localitatea), Locul de împușcare a vulpilor coordonatele GPS (latitudinea și longitudinea), proveniența probelor (Ocolul silvic, asociația vânătorilor).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Au fost analizate buletinele de analiză nr. 10522/04.03.2022, 10804/21.03.2022, nr. 10805/21.03.2022, nr. 10326/16.02.2022 de probe provenite de la vulpi, reprezentate de lichid toracic au fost luate în studiu, acestea fiind testate în cadrul Laboratorului Sanitar-Veterinar și pentru Siguranța Alimentelor Iași pentru verificarea eficacității campaniilor de vaccinare orală din cadrul programului strategic cu ajutorul kit-ului Platelia Rabies II.

Toate aceste probe au fost colectate în perioada anului 2021 după efectuarea campaniei de vaccinare orală din toamna anului 2021, respectiv după sezonul de vânătoare (Tab. 1).

Detecția și titrarea anticorpilor antirabici postvaccinali la vulpi a fost realizată prin intermediul metodei serologice ELISA.

Tabelul 1. Date cu referire la probele prentru detecția anticorpilor antirabici postvaccinali.

Nr. buletinului de analiză	Perioada de vaccinare	Lot vaccinului Lisvulpen	Detecția anticorpilor antirabici postvaccinali prin tehnica emunoenzimatică indirectă (ELISA)		
			Absenta anticorpi	Prezența anticorpi	Total probe investigate
10522/04.03.2022	04.10.2021 – 21.10.2021	9128 9228/21.03.2023	30	18	48
10804/21.03.2022	04.10.2021 – 21.10.2021	9128 9228/21.03.2023	37	20	57
10805/21.03.2022	04.10.2021 – 21.10.2021	9128 9228/21.03.2023	18	3	21
10326/16.02.2022	04.10.2021 – 21.10.2021	9128 9228/21.03.2023	29	11	40
Total 2022			114	52	166

În tabelul nr. 1 sunt descrise rezultatele analizelor efectuate în laborator în conformitate cu patru buletine de analize, incluzînd informațiile despre perioade de vaccinare, loturilor de vaccin folosit și rezultatele examinărilor detecției anticorpilor antirabici postvaccinali. Astfel, din totalul celor 166 prelevate în anul 2021 de probe de vulpi examinate cu ajutorul kitului ELISA, 52 de probe cercetate au fost pozitive, constituind (31,33%) , iar 114 probe, au livrat rezultate negative și au constituit (68,67%).

În același timp, din totalul a 166 probe de lichid toracic investigate, 101 probe au parvenit de la vulpile adulte și 65 probe de la vulpile tinere.

În tabelul nr. 2 sunt indicate rezultatele cu referire la prezența sau absența anticorpilor antirabici postvaccinali din totalul probelor investigate prin tehnica ELISA la vulpi adulți și la tineretul de vulpi.

Rezultatele obținute denotă faptul că din totalul a 65 de probe de lichid toracic prelevate de la tineret, 18 probe de lichid toracic au relatat prezența anticorpilor postvaccinali, iar 47 de probe au avut rezultate negative la prezența anticorpilor postvaccinali, ce constituie 27,69% de prezență a anticorpilor, sau de eficiență imunologică postvaccinală.

Concomitent, cerectările efectuate la probele de lichid toracic au confirmat, că din totalul a 101 probe de lichid toracic prelevate de la vulpi adulte, 34 de probe de lichid toracic au demonstrat prezența anticorpilor postvaccinali, iar 67 de probe au fost negative la prezența anticorpilor postvaccinali, ce a constituit 33,66% de probe cu rezultate pozitive prezența anticorpilor).

Tabelul 2. Rezultatele detecției anticorpilor antirabici postvaccinali la vulpi adulte și tinere

Detecția anticorpilor antirabici postvaccinali prin tehnica emunoenzimatică indirectă (ELISA) la vulpi adulți			Detecția anticorpilor antirabici postvaccinali prin tehnica emunoenzimatică indirectă (ELISA) Tineret de vulpi		
Absenta anticorpi	Prezența anticorpi	Total probe investigate	Absenta anticorpi	Prezența anticorpi	Total probe investigate
18	10	28	12	8	20
22	14	36	15	6	21
10	2	12	8	1	9
17	8	25	12	3	15
67	34	101	47	18	65

Din analiza tabelului 2 putem concluziona că formarea imunității și depistarea anticorpilor postvaccinali la vulpile adulte este cu 5,91% mai mare comparativ cu vulpile tinere.

Cercetările descrise au inclus compania de vaccinare toamna anului 2021 (04 octombrie 2021 – 21 octombrie 2021) în perioada menționată vârsta tineretului de vulpi a fost aproximativ 6 – 8 luni. Ipotetic diferența formării anticorpilor postvaccinali la vulpi adulte și vulpi tinere poate fi argumentat prin consumul momelilor vaccinale de către vulpi adulte mai mare comparativ cu vulpile tinere din cauza necunoașterii a produsului sau consumului exagerat de alte speciile de animale sălbatice sau cîini vagabonzi.În același timp un alt argument ar putea fi, că vulpile adulte au obținut imunitatea în timpul vaccinării de primăvara.

Realizarea unui vaccin eficient și sigur, a unei momeli atractive din punct de vedere olfactiv, implementarea unei strategii eficace pentru a acoperi o populație cât mai largă de vulpi, respectarea acelor reguli de către toate țările care implementează acest program, continuarea distribuției de momeli încă 2 ani de la ultimul caz de rabie, sunt doar câteva dintre condițiile pentru ca programul să dea rezultate.

Efectuarea vaccinării antirabice la carnivorele domestice și a celor sălbatice reprezintă singura cale prin care rabia poate fi prevenită, controlată și eradicată. Prezența anticorpilor antirabici neutralizanți în sângele animalelor este un indicator precis al eficacității vaccinării.

CONCLUZII

Acest studiu pe scară largă a relevat o relație între testările efectuate pentru determinarea prezenței/absenței anticorpilor postvaccinali la vulpi adulte și vulpi tinere ca urmare a campaniilor VOR, care a argumentat , că pentru o analiză mai ușoară a datelor privind eficacitatea VOR la nivel național și regional ar trebui recomandat o analiza mai amplă prin aplicarea metodelor de testările comune și interpretare a rezultatelor este necesar de o perioadă de minim 4-5 ani consecutive prin aplicarea a două campanii de vaccinare (primăvara și toamna).

De menționat faptul, că întrucât primăvara proporția cea mai mare a populației de vulpi este reprezentată de către tineret, pentru o eficacitate crescută al acestor campanii de vaccinare se recomandă distribuirea momelilor direct în vizuini.

Rezultatele cercetărilor serologiceau relatat o eficiență a imunizării antirabile de 31,33% la detecția anticorpilor sanguini și de 33,66% de prezența a anticorpilor specifici în lichidul toracic al vulpilor examinate.

BIBLIOGRAFIE

1. Cliquet, F., Sagn´e, L., Schereffer, J.L., Aubert, M.F.A., 2000. ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. Vaccine 18, 3272–3279.

2. Crozet, G., Rivi`ere, J., Rapenne, E., Cliquet, F., Robardet, E., Dufour, B., 2023. Quantitative risk assessment of rabies being introduced into mainland France through worldwide noncommercial dog and cat movements. Risk Anal. 43, 896–916.

3. Dascalu, M.A., Wasniewski, M., Picard-Meyer, E., Servat, A., Daraban Bocaneti, F., Tanase, O.I., et al., 2019. Detection of rabies antibodies in wild boars in north-east Romania by a rabies ELISA test. BMC Vet. Res. 15.

4. De Benedictis, P., Mancin, M., Cattoli, G., Capua, I., Terrregino, C., 2012. Serological methods used for rabies post vaccination surveys: an analysis. Vaccine 30, 5611–5615.

5. Delcourt, J., Brochier, B., Delvaux, D., Vangeluwe, D., Poncin, P., 2022. Fox Vulpes vulpes population trends in Western Europe during and after the eradication of rabies. Mammal. Rev. 52, 343–359.

6. Husek, J., Boudreau, M.R., Panek, M., 2021. Hunter estimates of game density as a simple and efficient source of information for population monitoring: A comparison to targeted survey methods. PLoS One 16.

7. Robardet, E., Cliquet, F., 2021. Review of the analysis related to rabies diagnosis and follow-up of oral vaccination performed in NRLs in 2020. EURL Rabies: Nancy Lab. Rabies Wildl. 18.

8. Wasniewski, M., Cliquet, F., 2020. Technical report on the second inter-laboratory study on the rabies antibody detection in wildlife samples in Europe. In: Rabies, Ef (Ed.), Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife, p. 34.

9. EFSA AHAW Panel , 2015. (EFA Panel on Animal Health and Welfare). Scientific opinion: Update on oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies, 13:70. European Commission, 2015. Working Discussion Document Guidelines to design an EU co-financed programme on eradication and control of Rabies in wildlife DG SANTE ed. p. 18.

10. WHO, 2018. WHO Expert Consultation on Rabies. Technical Report Series (Third report ed). World Health Organization, Geneva, p. 195 (Third report ed).

11. OIE, 2013- Terrestrial Manual, Capitol 2.1.17 Rabies (Infection with rabies virus), ed. OIE. Paris.

12. OIE, 2017 – Register of diagnostic kits certified by the OIE as validated as fit for purpose, available on-line at http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/certification-of-diagnostic-tests/the-register-of-diagnostic-tests/, data accesării 10.08.2017.

13. HOTĂRÂRE GUVERNUL Nr. 185 din 15-03-2019 privind aprobarea Planului măsurilor de supraveghere, control şi eradicare a rabiei la vulpi în Republica Moldova pentru anii 2019–2023