



Latvijas Lauksaimniecības Universitāte
Veterinārmedicīnas Fakultāte
Pārtikas un vides higiēnas institūts

Latvia University of Agriculture
Faculty of Veterinary Medicine
Institute of Food and Environmental Hygiene

Edvīns Oļševskis

**TRAKUMSĒRGAS APKAROŠANA LATVIJĀ, IZMANTOJOT
SAVVAĻAS LAPSU (*VULPES VULPES*) UN JENOTSUŅU
(*NYCTEREUTES PROCYONOIDES*) ORĀLO VAKCINĀCIJU**

**RABIES ELIMINATION IN LATVIA USING ORAL VACCINATION
OF FOXES (*VULPES VULPES*) AND RACCOON DOGS
(*NYCTEREUTES PROCYONOIDES*)**

Promocijas darba
KOPSAVILKUMS
Dr.med.vet zinātniskā grāda iegūšanai
Veterinārmedicīnas nozarē

SUMMARY
of doctoral thesis
for scientific degree Dr.med.vet.

Jelgava 2013

**PROMOCIJAS DARBA IZSTRĀDE UN NOFORMĒŠANA LĪDZFINANSĒTA ESF
NACIONĀLĀS PROGRAMMAS „ATBALSTS LLU DOKTORA STUDIJU
ĪSTENOŠANAI” IETVARĀ, LĪGUMA NR. 04.4-08/EF2.PD.66**

Promocijas darbs izstrādāts:

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Veterinārmedicīnas Fakultātes Pārtikas un vides higiēnas institūtā;
- Friedrich Loeffler institūtā (Epidemioloģijas institūtā) (FLI) – Federālajā Dzīvnieku veselības zinātniskajā institūtā (Vācija).

Research has been carried out at:

- Latvia University of Agriculture, Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Food and Environmental Hygiene;
- Institute of Epidemiology, Friedrich-Loeffler-Institute (FLI) – Federal Research Institute for Animal Health (Germany).

Promocijas darba zinātniskais vadītājs:**Scientific supervisor:**

Dr.med.vet., asociētais profesors

Edgars Liepiņš

Oficiālie recenzenti:**Official reviewers:**

Dr.med.vet., profesors

Arnis Mugurēvičs

Dr.med., Rīgas Stradiņa universitātes Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta asociētā profesore

Modra Murovska

Dr.med.vet., asociētā profesore

Ilze Matīse-VanHoutana

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2013.gada 27.jūnijā plkst. 14:00

LLU Veterinārmedicīnas fakultātē, Jelgavā, K.Helmaņa ielā 8, pirmajā auditorijā

The defence of thesis will take place at the Faculty of Veterinary Medicine LUA, Auditorium 1, June 27, 2013 at 14:00 o'clock

Ar promocijas darbu var iepazīties Latvijas Lauksaimniecības universitātes Fundamentālajā bibliotēkā, Jelgavā, Lielajā ielā 2 un http://lufb.llu.lv/promoc_darbi.html

The thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Agriculture, Lielā iela 2, Jelgava and http://lufb.llu.lv/promoc_darbi.html

ISBN 978-9984-861-43-2 (online)

SATURA RĀDĪTĀJS

IEVADS	5
Promocijas darba uzdevumi	6
Darba zinātniskā novitāte	6
Pētījuma rezultātu aprobācija	6
MATERIĀLS UN METODES	7
Trakumsērgas apkarošanas programma, izmantojot savvaļas dzīvnieku orālo vakcināciju	8
Trakumsērgas vīrusa noteikšana	8
Trakumsērgas orālās vakcinācijas kampaņu efektivitātes analīze	9
Trakumsērgas ORV stratēģiju izmaksu efektivitātes analīze	9
Karšu sagatavošana	10
Datu statistiskā apstrāde	11
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA	12
Pētījuma periodā (1991.-2011.g.) izmantotās trakumsērgas ORV stratēģijas	12
Trakumsērgas izplatības analīze Latvijā pētījuma perioda laikā (1991.-2011.gads)	13
Dažādu trakumsērgas ORV stratēģiju ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā pētījuma periodā (1991.-2011.g.)	14
Trakumsērgas ORV stratēģiju efektivitātes parametru (vakcīnas ēsmu uzņemšana un imunitātes līmenis) analīze savvaļas lapsām un jēnotsuņiem (1991.-2011.g.)	16
Trakumsērgas vīrusa noteikšana ORV stratēģijas C efektivitātes noteikšanas ietvaros izmeklēšanai iesūtītajām lapsām un jēnotsuņiem	23
Izmaksu efektivitātes analīze Latvijā izmantotajām trakumsērgas orālās vakcinācijas stratēģijām (1991.-2011.g.)	24
SECINĀJUMI	27
PRIEKŠLIKUMI	28
ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES	30

CONTENTS

INTRODUCTION	31
Objectives of the study	32
Scientific novelty of the study.....	32
Approbation of the research results.....	32
MATERIAL AND METHODS.....	33
Rabies control program by use of oral vaccination of wild animals	34
Detection of the rabies virus.....	34
Efficacy analysis of rabies oral vaccination campaigns	35
Cost effectiveness analysis of different ORV strategies.....	35
Drawing of maps	36
Statistical analysis	37
RESULTS AND DISCUSSION.....	38
Strategies of ORV against rabies applied over the research period (1991-2011).....	38
Analysis of the rabies prevalence in Latvia over the research period (1991-2011).....	39
Impact of different ORV strategies on the prevalence of rabies in Latvia over the research period (1991-2011)	40
The analysis of efficiency parameters of ORV strategies against rabies (consumption of the vaccine baits and the immunity level) for wild foxes and racoon dogs (1991-2011)	41
Detection of the rabies virus within the framework of ORV strategy C efficacy evaluation for foxes and raccoon dogs.....	45
Cost efficacy analysis for oral vaccination strategies applied in Latvia (1991-2011).....	46
CONCLUSIONS	48
PROPOSALS.....	49
SCIENTIFIC PUBLICATIONS	51

IEVADS

Trakumsērga joprojām ir globāla mēroga vīrusa ierosināta zoonoze ar milzīgu negatīvu ietekmi uz sabiedrības veselību, lauksaimniecību un ekonomiku (Eisinger et al., 2005; Rupprech et al., 2006). Ar trakumsērgu pasaulē gadā saslimst un iet bojā ap 40 000-55 000 cilvēku, lielākā daļā no tiem Āzijā (56%) un Āfrikā (44%) un aptuveni 99% no cilvēku nāves gadījumiem cēlonis ir bijis ar trakumsērgu slima suņa kodums (WHO Expert Consultation on rabies..., 2004; Bourhy et al., 2005). Bez tam, tikai Eiropā vien, katru gadu antirabisko palīdzību pēc iespējami inficētu dzīvnieku kodumiem saņem aptuveni desmit miljoni cilvēku (Bourhy et al., 2005).

Trakumsērga daudzviet pasaulē izplatīta savvaļas dzīvnieku vidū, kuri bieži vien ir arī trakumsērgas vīrusa rezervuāri dabā. Eiropā visbiežāk trakumsērgas rezervuāri dabā ir savvaļas lapsas (*Vulpes vulpes*) (The oral vaccination..., 2002).

Trakumsērgas apkarošanai izmantotās tradicionālās metodes, kas galvenokārt bija orientētas uz savvaļas dzīvnieku populācijas samazināšanu, trakumsērgas kontrolēšanai izrādījās dārgas un neefektīvas (Smreczak and Źmudzinski, 2005). Kopš 1978.gada, kad Šveicē tika veikti pirmie praktiskie mēģinājumi veikt trakumsērgas rezervuāru orālo vakcināciju, lielākā daļa Rietumeiropas valstu, pateicoties orālās vakcinācijas stratēģijas ieviešanai, ir kļuvušas par brīvām no trakumsērgas (Steck et al., 1982; Wandeler et al., 1988; Bourhy et al., 2005).

Latvijā trakumsērga ir endēmiska kopš 19.gadsimta un kopš 1963.gada slimība sastopama galvenokārt savvaļas dzīvniekiem (Westerling et al., 2004). Trakumsērgas vīrusa rezervuāri Latvijā ir lapsas un jenotsuņi (*Nyctereutes procyonoides*). Katru gadu Latvijā tiek reģistrēti dažādu sugu dzīvnieku saslimšanas gadījumi ar trakumsērgu. Cilvēkiem pēdējos 20 gados Latvijā ir konstatēti trīs saslimšanas gadījumi. Neskatoties uz suņu un kaķu obligāto profilaktisko vakcināciju valstī, no mājdzīvniekiem suņi un kaķi saslimst visbiežāk.

Lapsu un jenotsuņu orālā vakcinācija cīņai ar trakumsērgu atsevišķos Latvijas rajonos uzsākta 1991.gadā un kopš tās uzsākšanas valstī lietotas dažādas orālās vakcinācijas stratēģijas, tomēr Latvija vēl nav kļuvusi par brīvu valsti no trakumsērgas.

Eiropas valstīs veikti daudzi pētījumi par trakumsērgas izplatību, orālās vakcinācijas izmantošanu trakumsērgas apkarošanā, kā arī pētījumi par trakumsērgas orālās vakcinācijas efektivitātes novērtēšanu (The oral vaccination..., 2002, Vitasek, 2004). Latvijā ir veikti tikai daži nelieli pētījumi, analizējot īsu laika periodu.

Tādēļ, mūsu darba mērķis bija novērtēt trakumsērgas apkarošanu Latvijā laika periodā no 1991.-2011.gadam, analizējot savvaļas dzīvnieku orālo vakcināciju un izstrādāt priekšlikumus turpmākai rīcībai atbilstoši trakumsērgas izplatības izmaiņām.

Promocijas darba uzdevumi

1. Analizēt trakumsērgas orālās vakcinācijas stratēģiju ietekmi uz trakumsērgas izplatību Latvijā laika periodā no 1991.gada līdz 2011.gadam.
2. Salīdzināt trakumsērgas orālās vakcinācijas efektivitātes parametrus (vakcīnas ēsmu uzņemšana, imunitātes līmenis) savvaļas lapsām un jenotsuņiem atkarībā no izmantotās orālās vakcinācijas stratēģijas (1991-2011).
3. Veikt izmaksu efektivitātes analīzi Latvijā pielietotajām trakumsērgas orālās vakcinācijas stratēģijām (1991-2011).
4. Izstrādāt priekšlikumus turpmākai trakumsērgas profilakses/apkarošanas stratēģijai atbilstoši trakumsērgas izplatības izmaiņām Latvijā.

Darba zinātniskā novitāte

1. Trakumsērga joprojām ir aktuāla problēma pasaulē un Latvijā.
2. Pirmo reizi Latvijā veikta trakumsērgas apkarošanas procesa efektivitātes analīze, aptverot ilgu pētījuma periodu, kas iekļauj visu trakumsērgas orālās vakcinācijas izmantošanas periodu (1991-2011).
3. Pirmo reizi Latvijā veikta trakumsērgas orālās vakcinācijas kā apkarošanas metodes izmaksu efektivitātes analīze.
4. “Latvijas veiksmes stāsts” un paraugs citām valstīm, kurās trakumsērga ir endēmiska, lai izvēlētos efektīvāko apkarošanas stratēģiju.

Pētījuma rezultātu aprobācija

Pētījuma rezultāti aprobēti šādās starptautiskās zinātniskās konferencēs:

1. E.Oļševskis, K.Lamberga, E.Liepiņš. Cost efficiency of rabies oral vaccination strategies implemented in Latvia from 1991 to 2011”, International Scientific Conference “Animals. Health. Food hygiene”. 22-23th November, 2012, Jelgava, Latvia
2. E.Oļševskis, E.Liepiņš, K. Lamberga. Evaluation of different rabies eradication strategies applied in Latvia from 1991 to 2010. “OIE Global conference on Rabies control: Towards Sustainable Prevention at the Source” no 7-9th September, 2011, Incheon – Seul, Republic of Korea
3. E.Oļševskis, E.Liepiņš, K.Lamberga, I.Rodze. Efficacy of the first large scale rabies oral vaccination campaigns in Latvia during 2005.

4. E.Oļševskis, E.Liepiņš. Rabies oral vaccination in Latvia – past, present and future. International Scientific Conference “Animals. Health. Food hygiene”. 29th October, 2010, Jelgava, Latvia

Darba apjoms: promocijas darbs noformēts 107 lappusēs un sastāv no anotācijas, ievada, literatūras apraksta, darba metodikas, pētījuma rezultātiem, diskusijas, secinājumiem, priekšlikumiem un izmantotās literatūras saraksta.

MATERIĀLS UN METODES

Promocijas darba ietvaros analizējam Pārtikas un veterinārā dienesta (PVD) datus par trakumsērgas izplatību Latvijā un trakumsērgas apkarošanas programmas ieviešanu, kā arī Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā „BIOR” (BIOR) (līdz 2010.gada 1.janvārim PVD Nacionālais diagnostikas centrs) veikto laboratorisko izmeklējumu rezultātus laika posmā no 1991.-2011.gadam.

Visu sugu dzīvnieku liķu laboratoriskā izmeklēšana trakumsērgas vīrusa klātbūtnes noteikšanai un tipizēšanai (ja vīrusa klātbūtne tiek apstiprināta), bioloģiskā marķiera – tetraciklīna noteikšanai un imunitātes sprauguma (antiviēlu klātbūtnes) noteikšanai veikti BIOR. Trakumsērgas orālās vakcīnas kvalitātes noteikšana pirms vakcinācijas kampaņas (viens vakcinācijas etaps, kura laikā tiek veikta savvaļas dzīvnieku vakcinācija) uzsākšanas arī veikta BIOR. Lai apkopotu BIOR veiktos izmeklējumus tālākai analīzei pieejamā veidā, doktorantūras studiju laikā izstrādājam elektronisku datu bāzi, kurā no veikto laboratorisko izmeklējumu testēšanas pārskatiem ievadījam detalizētu informāciju katru izmeklēto dzīvnieku un tam veikto laboratorisko izmeklējumu rezultātiem.

Lai veiktu Latvijā kopš 2005.gada vakcinācijas teritorijā izolēto trakumsērgas vīrusu tipizāciju, lauka vīrusu atšķiršanai no orālās vakcīnas vīrusu celmiem, trakumsērgas vīrusu izolāti no BIOR nosūtīti uz Eiropas Savienības Trakumsērgas References laboratoriju ANSES, Nancy (Francija).

Epidemioloģisko datu un izmaksu efektivitātes analīzi, kā arī trakumsērgas gadījumu ģeogrāfiskās lokalizācijas karšu izstrādi veicām sadarbībā ar Friedrich Loeffler Epidemioloģijas institūtu (Federālais Dzīvnieku veselības zinātniskais institūts) Vācijā, kas ir arī Pasaules dzīvnieku veselības organizācijas (OIE) Trakumsērgas References laboratorija un Pasaules Veselības organizācijas (WHO) Trakumsērgas uzraudzības un pētniecības sadarbības centrs, kā arī Vācijas Nacionālā trakumsērgas References laboratorija.

Trakumsērgas apkarošanas programma, izmantojot savvaļas dzīvnieku orālo vakcināciju

Savvaļas dzīvnieku ORV kā trakumsērgas apkarošanas programmas sastāvdaļa Latvijā pirmoreiz tika veikta 1991.gadā. No 1991.gada līdz 2003.gadam orālās vakcīnas ēsmas noteiktā daudzumā tika izliktas manuāli pie lapsu alām un 5 dienas pēc izlikšanas tika veiktas pārbaudes, apskatot cik no vakcīnas ēsmām ir apēstas. Vakcīnas izlikšanas vietas tika atzīmētas kartēs. Kopš 2005.gada orālās vakcīnas ēsmu izlikšanai sāka izmantot aviotehniku, nodrošinot vienmērīgu vakcīnas ēsmu izlikšanu Latvijas teritorijā.

Lai nodrošinātu vakcināciju arī teritorijās, kur vakcinācija, izmantojot aviotehniku, nav iespējama, PVD inspektori ORV kampaņu laikā papildus vakcīnu manuāli izvietoja pilsētu zaļajās zonās, parkos un kapu tuvumā, kur uzturas lapsas. Papildus vakcinācija sadarbībā ar Valsts Robežsardzi tika veikta Krievijas Federācijas un Baltkrievijas pierobežā (3 km zonā), kur nav atļauti komercclidojumi.

Kopš 1991.gada Latvijā visā pētījuma periodā veiktas 29 ORV kampaņas, kuras ir savstarpēji atšķirīgas. Tādēļ, lai veiktu ORV kampaņu analīzi un epidemioloģisko datu salīdzināšanu, tika noteikti ORV kampaņu raksturojošie parametri:

- teritorija, kurā veikta orālā vakcinācija (lokalizācija, lielums, procentuālā attiecība pret valsts kopējo teritoriju);
- vakcinācijas kampaņu skaits gadā;
- vakcinācijas kampaņu norises laiks;
- izmantotās vakcīnas ēsmas (vakcīnas celms, ražotājs);
- vakcīnas ēsmu izlikšanas veids (manuāli vai no gaisa, izmantojot aviāciju);
- izlikto vakcīnas ēsmu skaits;
- izlikto vakcīnas ēsmu blīvums (vakcīnas ēsmu skaits uz vienu kvadrātkilometru).

Lai definētu atsevišķas trakumsērgas ORV stratēģijas, papildus ORV kampaņu raksturojošajiem parametriem, tika ņemta vērā arī:

- trakumsērgas uzraudzības sistēma;
- ORV kampaņas plānošana, koordinēšana, vadība un procesa kontrole – atbildīgās personas;
- orālās vakcīnas uzglabāšanas apstākļi un temperatūras režīma kontrole;
- orālās vakcīnas kvalitātes kontrole pirms tās izlikšanas.

Trakumsērgas vīrusa noteikšana

Lai noteiktu trakumsērgas vīrusu smadzenēs, kā standarta metode tiek izmantota imūnfluorescences metode (IFM). Negatīvu IFM rezultātu apstiprināšanai, īpaši gadījumos, kad aizdomīgais dzīvnieks ir uzbrucis cilvēkam vai dzīvniekam, paralēli tiek izmantotas arī citas laboratoriskās

izmeklēšanas metodes (vīrusa izdalīšana šūnu kultūrās vai polimerāzes ķēdes reakcija (PCR), vai peļu inokulācijas tests jeb bioraudze).

Trakumsērgas orālās vakcinācijas kampaņu efektivitātes analīze

Trakumsērgas orālās vakcinācijas efektivitātes noteikšanai līdz 2004.gadam vienīgais rādītājs bija trakumsērgas izplatība jeb saslimušo dzīvnieku skaits gadā, bet kopš 2005.gada Latvijā saskaņā ar starptautiskām rekomendācijām tika izmeklēti 4-8 nomedītie savvaļas dzīvnieki uz 100 km² vakcinētās teritorijas. Kopumā trakumsērgas orālās vakcinācijas kampaņu efektivitātes novērtēšanas ietvaros pētījuma perioda laikā laboratoriskai izmeklēšanai tika iesūtīti 20 651 savvaļas dzīvnieki (lapsas un jenotsuņi).

Lai noteiktu vakcīnas ēsmas uzņemšanu mērķa sugu savvaļas dzīvniekiem (lapsām un jenotsuņiem), kopš 2001.g. tika izmantota luminiscences mikroskopijas metode (LM). Orālās vakcīnas ēsmās ir iestrādāts bioloģiskais marķieris – tetraciklīns (TC), kurš pēc ēsmas apēšanas izgulsnējās dzīvnieka kaulaudos un ir konstatējams laboratoriskās izmeklēšanas rezultātā ar LM (Johnston et al., 1987). Laboratoriskai izmeklēšanai tika izmantoti nomedīto savvaļas lapsu un jenotsuņu apakšžokļa kauli (*mandibula*), no kuriem autopsijas rezultātā iegūti zobu un kaulu audi - ilknis (*dens caninus*) un apakšžokļa kaulaudu daļa.

Seroloģisko testu izmantošana imunitātes spraiguma jeb serokonversijas noteikšanai savvaļas lapsām un jenotsuņiem trakumsērgas ORV kampaņu efektivitātes analīzei Latvijā 2005.gada izmantoti divi testi – fluorescences antivielu vīrusa neitralizācijas tests (FAVN tests) (Cliquet et al., 1998) un netiešā imūnfermentācijas analīze jeb ELISA (Servat et al., 2007) (Platelia™ Rabies II kit, Biorad, Francija). Par nosakāmā antivielu kvantitatīvā līmeņa zemāko sliekšni tika izmantotas divas robežvērtības - antivielu līmenis lielāks vai vienāds ar 0.5 IU/ml un lielāks vai vienāds ar 0.125 IU/ml.

Iegūtos rezultātus salīdzinājām lapsām un jenotsuņiem pa gadiem, kā arī analizējām to ietekmi uz trakumsērgas izplatību un orālās vakcīnas uzņemšanas rezultātiem. Atsevišķi analizējām arī vienam dzīvniekam ar minētajām metodēm iegūto rezultātu kombinācijas. Laboratorisko izmeklējumu rezultātus apkopojām, tiem aprēķinājām pozitīvo paraugu procentuālās attiecības (%) un 95% (P=0.05) ticamības intervālus. Savstarpēji salīdzinājām katras ORV stratēģijas efektivitātes rādītājus un ORV stratēģijas C efektivitātes rādītājus starp dzīvnieku sugām un gadiem. Iegūto rezultātu salīdzināšanai tika izmantots 95% būtiskuma līmenis ($p < 0.05$).

Trakumsērgas ORV stratēģiju izmaksu efektivitātes analīze

Trakumsērgas ORV stratēģiju izmaksu analīzes veikšanai plānojam apkopot ORV kampaņu tiešās izmaksas (orālās vakcīnas ēsmu iegāde un uzglabāšana, vakcīnas ēsmu izlikšana (ar rokām – manuāla vai izmantojot

lidmašīnas un helikopterus), laboratoriskie izmeklējumi ORV kampaņu efektivitātes noteikšanai) visā pētījuma periodā. Darba gaitā apkopojām datus no PVD par ORV kampaņu izmaksām no 2005.-2011.gadam, tomēr mums nebija iespējams iegūt finanšu datus par laika periodu no 1991. līdz 2004.gadam.

Lai noteiktu izmaksu efektivitāti periodam no 2005.-2011.gadam, izmantojām Vācijā izstrādāto trakumsērgas ORV kampaņu izmaksu-efektivitātes modeli (Selhorst un Schluter, 1997).

$$f(x) = a \cdot \exp(-n \cdot x)$$

kur:

- f(x) - trakumsērgas gadījumu samazināšanās attiecībā pret kumulatīvajām izmaksām gadā;
- a - paredzamais trakumsērgas gadījumu skaits gadā, ja $x=0$;
- x - kumulatīvās izmaksas gadā;
- n - trakumsērgas gadījumu samazināšanās temps attiecībā pret jau iztērēto naudas vienību.

Šajā modelī n raksturo trakumsērgas gadījumu samazināšanās tempu attiecībā pret jau iztērēto naudas vienību un to sākumā aprēķina katram perioda gadam atsevišķi, bet tad izrēķina vidējo rādītāju, kas arī raksturo analizējamo periodu.

Lai trakumsērgas gadījumu samazināšanos attiecībā pret kumulatīvajām izmaksām gadā vizualizētu, izveido grafiku. Attiecības ciešuma noteikšanai starp trakumsērgas gadījumu samazināšanos un kumulatīvajām izmaksām, piemēro eksponenciālās funkcijas vai parastās lineārās regresijas līkni un determinācijas koeficientu.

Lai novērtētu izmaksu efektivitātes tendenci periodiem no 1991.-1997.g. un 1998.-2004.g., kur nebija iespējams iegūt finanšu datus, radām alternatīvu – pielāgojot augstāk minēto Selhorst un Schluter (1997) modeli, kumulatīvās izmaksas pa gadiem tajā aizstājot ar kumulatīvo vakcinācijas teritoriju (vakcinēto teritoriju laukuma (km^2) summa pa gadiem). Tas bija iespējams, jo vairāk par 90% no trakumsērgas ORV kampaņu kopējām izmaksām sastāda orālās vakcīnas iegādes un izlikšanas izmaksas (Selhorst & Schluter, 1997) un abi šie rādītāji ir tieši saistīti ar vakcinācijas teritorijas lielumu.

Karšu sagatavošana

Pētījumu rezultātu ilustrācijai par katru gadu visā pētījuma periodā tika sagatavotas Latvijas kartes ($n=21$) ar katra reģistrētā trakumsērgas gadījuma lokalizāciju, izdalot atsevišķi mājdzīvniekiem un savvaļas dzīvniekiem konstatētos trakumsērgas gadījumus. Kartes promocijas darba ietvaros

sagatavojām sadarbībā ar Friedrich Loeffler Epidemioloģijas institūtu (Vācija) pēc mūsu apkopotajiem datiem, izmantojot datorprogrammu ArcGIS 9 (2003).

Datu statistiskā apstrāde

Pētījuma rezultātu statistiskā apstrāde tika veikta izmantojot MS Excel 2007 (Arhipova, Bāliņa, 2006) un R programmatūru (R Development Core Team, 2011).

Latvijā reģistrēto trakumsērgas gadījumu skaita atšķirību būtiskumu pa gadiem un stratēģijām salīdzinājām, izmantojot Fišera testu un korelācijas analīzi.

Trakumsērgas ORV kampaņu efektivitātes rādītāju laboratorisko izmeklējumu (IFM, LM, FAVN un ELISA testi) rezultātiem tika noteikti 95% ($P=0.05$) ticamības intervāli, izmantojot interneta vidē tiešsaistē pieejamo programmatūras rīku paketi (<http://statpages.org/confint.html>).

PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Pētījuma periodā (1991. – 2011.g.) izmantotās trakumsērgas ORV stratēģijas

Pētījuma periods ietver lielu laika posmu (1991.-2011.g.) un tajā veiktās trakumsērgas ORV kampaņas bijušas ļoti atšķirīgas (1. tabula), tādēļ visa pētījuma perioda analīze dod tikai vispārīgu priekšstatu, bet neļauj iedziļināties niansēs. Lai veiktu detalizētu analīzi, visā pētījuma periodā definējam trīs atsevišķus periodus jeb stratēģijas:

- 1) trakumsērgas ORV no 1991. līdz 1997. gadam – stratēģija A;
- 2) trakumsērgas ORV no 1998. līdz 2004. gadam – stratēģija B;
- 3) trakumsērgas ORV no 2005. līdz 2011. gadam – stratēģija C.

1. tabula

Trakumsērgas ORV stratēģiju raksturojums

Stratēģija	Izmantotā vakcīna	Vakcīnas izlikšana	ORV kampaņu efektivitātes novērtēšana
A 1991-1997	Injicējama vakcīna ar pielāgotu ēsmu bez bioloģiskā marķiera.	Neregulāra, izlika mazā apjomā, manuāli, atsevišķos rajonos ar augstāko trakumsērgas izplatību.	Tikai pēc trakumsērgas izplatības. Laboratoriskos testus nebija iespējams pielietot vakcīnas veida dēļ.
B 1998-2004	Orālā vakcīna, kas rūpnieciski iestrādāta ēsmā ar bioloģisko marķieri (tetraciklīnu).	Regulāra, nepietiekamā apjomā, manuāla vairākos rajonos.	Ierobežota, tikai nosakot trakumsērgas izplatību un vakcīnas uzņemšanu lapsām un jēnotsuņiem. Seroloģiskie testi nebija pieejami.
C 2005-2011	Orālā vakcīna, kas rūpnieciski iestrādāta ēsmā ar bioloģisko marķieri (tetraciklīnu).	Regulāra, optimālā apjomā, izmantojot aviāciju, visā valsts teritorijā.	Visaptveroša, nosakot trakumsērgas izplatību, vakcīnas uzņemšanu un imunitātes līmeni lapsām un jēnotsuņiem.

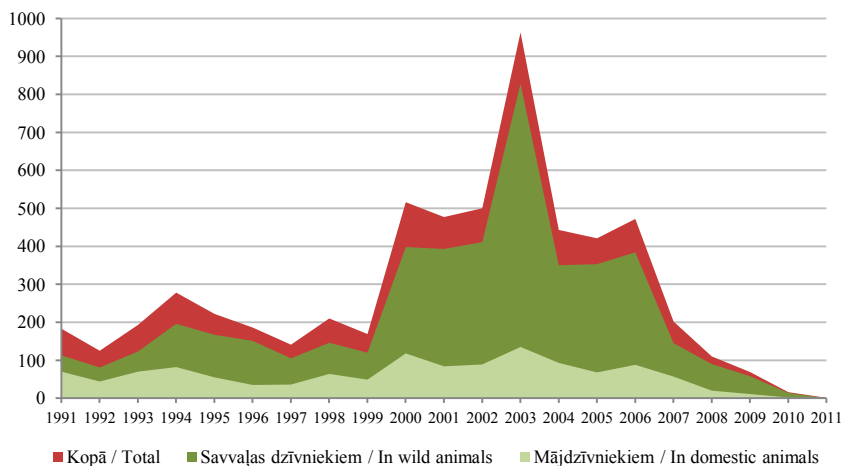
Analīzes rezultātā konstatējām, ka 21 gada laikā (1991-2011) Latvijā veiktas 29 trakumsērgas ORV kampaņas, kuru laikā izliktas 19 053 243 orālās vakcīnas ēsmas. Kopumā vakcinētās teritorijas laukums šajā periodā bija 848 094 km², no kuriem 415 019 km² teritorijas vakcinēts pavasara ORV kampaņu (n=12) ietvaros, bet 433 075 km² teritorijas vakcinēti rudens ORV kampaņu (n=17) ietvaros. Visā periodā lietotas četras dažādas orālās vakcīnas. Vidējais izlikto orālās vakcīnas ēsmu blīvums periodā ir 11.47 ± 2.19 ēsmas/km² (vidējais skaits ± standartklūda). Četros no 21 perioda gadiem ORV

kampaņas Latvijā nav veiktas, piecos no gadiem veikta tikai viena trakumsērgas ORV kampaņa.

Trakumsērgas izplatības analīze Latvijā pētījuma perioda laikā (1991.-2011.gads)

Kopumā pētījuma perioda laikā trakumsērgas vīrusa noteikšanai laboratoriskai izmeklēšanai iesūtīti 18 157 dzīvnieki ar aizdomām par saslimšanu ar trakumsērgu. No izmeklētajiem paraugiem 5 897 paraugi (32.48%) tika apstiprināti kā pozitīvi. Pētījuma periodā trīs saslimšanas gadījumi konstatēti arī cilvēkiem.

No laboratoriski apstiprinātajiem trakumsērgas gadījumiem 4 626 (78.45%) tika reģistrēti savvaļas dzīvniekiem, bet mājdzīvniekiem 1 271 gadījums (21.55%) (1.attēls).



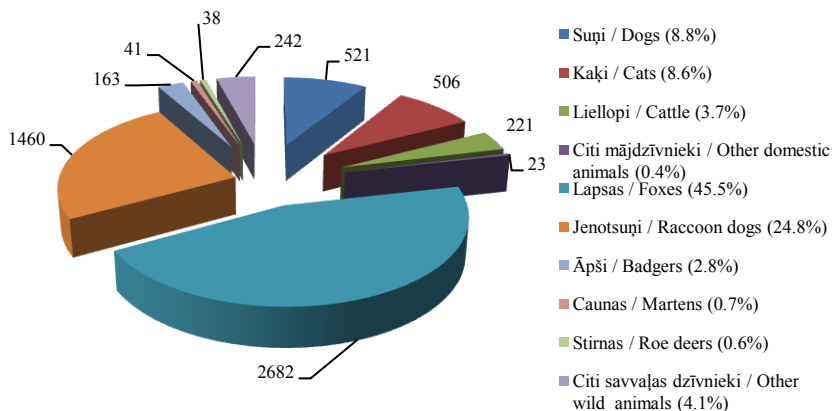
1.att. Trakumsērgas izplatība savvaļas dzīvniekiem un mājdzīvniekiem (1991.-2011.g.)

Fig. 1. Rabies incidence in domestic and wild animals (1991-2011)

Trakumsērgas izplatības atšķirība starp savvaļas dzīvniekiem un mājdzīvniekiem uzskatāma par būtisku ($p < 0.001$). Līdzīgi pētījumu rezultāti iegūti arī Lietuvā, kur savvaļas dzīvnieki sastādīja 68.30% (Mačiulskis et al., 2006) un Igaunijā – 80.80% (Niin et al., 2008) no kopējā saslimšanas gadījumu skaita.

Analizējot trakumsērgas saslimšanas gadījumu skaitu pa dzīvnieku sugām, konstatējām, ka visvairāk saslimšanas gadījumi reģistrēti lapsām un

jenotsuņiem – 4 142 (70.24%), bet ievērojami mazāk saslimšanas gadījumi tika konstatēti suņiem un kaķiem 1 027 (17.42%).



2.att. Trakumsērgas izplatība dažādām dzīvnieku sugām Latvijā (1991.-2011.g.)

Fig. 2. Rabies incidence in different animal species in Latvia (1991-2011)

Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka 89.54% no visiem savvaļas dzīvnieku saslimšanas gadījumiem pētījuma periodā sastāda lapsām un jenotsuņiem konstatētie gadījumi. Iepriekšējos pētījumos par trakumsērgas izplatību Baltijas valstīs iegūti līdzīgi rezultāti (Vanaga et al., 2003, Zienius et al., 2002, 2003, 2004, Milius et al., 2004, Maciulskis et al., 2006, Niin et al., 2008, Singer et al., 2009), kas norāda uz Baltiju kā vienotu reģionu ar ļoti līdzīgiem trakumsērgas epidemioloģiskajiem rādītājiem - slimība vairāk izplatīta savvaļas dzīvniekiem, galvenie rezervuāri – lapsas un jenotsuņi. Jāatzīmē, ka Lietuvā un Igaunijā iegūti atšķirīgi rezultāti attiecībā uz galveno trakumsērgas rezervuāru, jo kopš 2001.gada Lietuvā un kopš 2002.gada Igaunijā reģistrēto jenotsuņu saslimšanas gadījumu skaits gadā bija lielāks par lapsu skaitu (Vanaga et al., 2003; Westerling et al., 2004; Maciulskis et al., 2006; Niin et al., 2008; Laine et al., 2008, Singer et al., 2009; Smreczak et al., 2009; Zienius et al., 2011). Šie dažādie pētījumu rezultāti ir grūti izskaidrojami, vēl jo vairāk tāpēc, ka Latvija ģeogrāfiski atrodas starp Lietuvu un Igauniju.

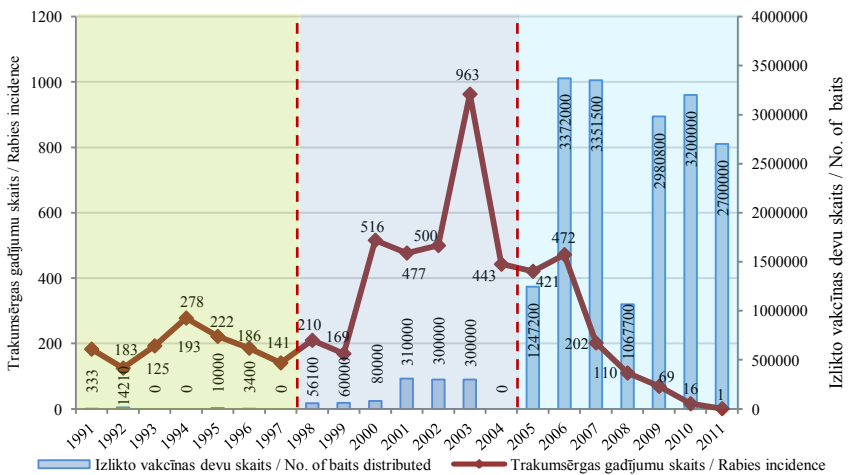
Dažādu trakumsērgas ORV stratēģiju ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā pētījuma periodā (1991.-2011.g.)

Reģistrēto trakumsērgas gadījumu skaits, salīdzinot pētījuma perioda sākumu - 1991.gadu, izmantojot dažādas trakumsērgas ORV stratēģijas,

samazinājies no 183 gadījumiem līdz vienam gadījumam 2011.gadā. Tomēr visā pētījuma periodā trakumsērgas izplatībai novērojām dažādas tendences, t.sk., palielināšanos līdz Latvijas vēsturē augstākajam punktam - 963 gadījumiem 2003.gadā. Ņemot vērā šo faktu, katras trakumsērgas ORV stratēģijas ietekme uz slimības izplatību analizēta atsevišķi.

Lai novērtētu trakumsērgas ORV stratēģiju A, B un C ietekmi uz trakumsērgas izplatību Latvijā, veicām dažādu stratēģiju svarīgāko raksturojošo rādītāju iespējamās ietekmes analīzi un salīdzināšanu.

Trakumsērgas ORV stratēģiju A, B un C ieviešanas laikā izlikto vakcīnas ēsmu skaita ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā attēlota 3.attēlā.



3.att. Dažādu trakumsērgas ORV stratēģiju laikā izlikto vakcīnas ēsmu skaita ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā

Fig.3. Influence of the number of vaccine baits distributed during different ORV campaigns to rabies incidence in Latvia

Jāuzsver, ka visa pētījuma perioda laikā, neatkarīgi no pielietotās trakumsērgas apkarošanas stratēģijas, saslimušo lapsu un jēnotsuņu attiecība nemainījās, kas liecina, ka lapsas un jēnotsuņi ir galvenās trakumsērgas vīrusa rezervuāra sugas Latvijā.

Trakumsērgas ORV stratēģijas A ieviešana uzsākta 1991.gadā un veikto četru vakcinācijas kampaņu laikā izliktas 27 943 ēsmas ar vakcīnu. Šajā periodā par ēsmām tika izmantotas vistu galvas un zivis, kurās Krievijā ražota vakcīna tika injicēta pirms izlikšanas. Stratēģijas A ieviešanas laikā vakcīnas ēsmas izliktas manuāli un neregulāri (tikai četros no septiņiem gadiem). No 3. attēla redzams, ka stratēģijas A ieviešanas laikā, salīdzinot reģistrēto

trakumsērgas gadījumu skaitu dzīvniekiem 1991.gadā un 1997.gadā, trakumsērgas gadījumu skaits nav būtiski ($p > 0.05$) samazinājies.

Trakumsērgas ORV stratēģijas B ieviešana uzsākta 1998.gadā un veikto 11 vakcinācijas kampaņu laikā izlikta 1 106 100 rūpnieciski ražotas, divu dažādu vakcīnas vīrusa celmu (SAD P5/88 un SAD Bern) saturošas orālās vakcīnas ēsmas. Tomēr arī šīs stratēģijas laikā vakcīnas ēsmas tika izlikta manuāli. Neskatoties uz ievērojami palielināto ($p < 0.05$) izlikto trakumsērgas orālās vakcīnas ēsmu skaitu stratēģijas B laikā, salīdzinot ar stratēģiju A, trakumsērgas gadījumu skaits būtiski ($p < 0.05$) palielinājās, sasniedzot 963 gadījumus 2003.gadā (skat. 3. attēlu).

Trakumsērgas ORV stratēģija C tika uzsākta 2005.gadā un veikto 14 vakcinācijas kampaņu laikā, izlikta 17 919 200 rūpnieciski ražotas, divu dažādu vakcīnas vīrusa celmu (SAD B19 un SAD Bern) saturošas orālās vakcīnas ēsmas. Ieviešot šo stratēģiju, tika uzsākta aviācijas izmantošana vakcīnas ēsmu izlikšanai. Salīdzinot ar stratēģiju B, stratēģijas C laikā izlikto vakcīnas ēsmu skaits bija ievērojami lielāks ($p < 0.001$), kā rezultātā trakumsērgas izplatība dzīvniekiem Latvijā strauji samazinājās no 421 gadījuma 2005.gadā līdz vienam gadījumam 2011.gadā.

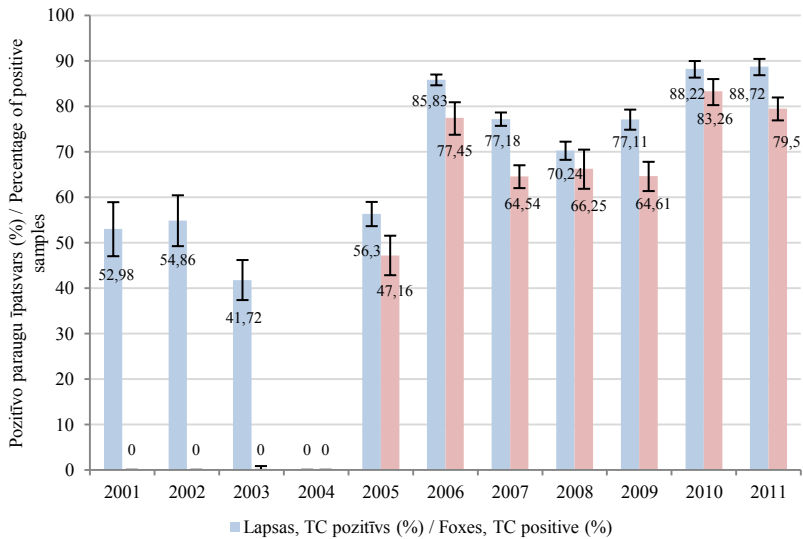
Analizējot izlikto vakcīnas ēsmu blīvuma ietekmi uz trakumsērgas izplatību, konstatējām, ka stratēģijas A laikā vidējais izlikto vakcīnas ēsmu blīvums bija tikai 4 ēsmas/km², bet stratēģijas B laikā – 9.7 ēsmas/km², kas ir ievērojami mazāk kā rekomendēts (18-30 ēsmas/km²). Līdz ar to A un B stratēģiju laikā izmantotais izlikto vakcīnu ēsmu blīvums nav samazinājis trakumsērgas izplatību Latvijā. Savukārt, stratēģijas C izmantotajam vidējam izlikto vakcīnas ēsmu blīvumam - 24.18 ēsmas/km² konstatējām pozitīvu ietekmi uz trakumsērgas izplatību Latvijā, kā rezultātā tā samazinājās no 421 gadījuma 2005.gadā līdz vienam gadījumam 2011.gadā.

Salīdzinot trakumsērgas izplatību dažādu trakumsērgas ORV stratēģiju izmantošanas laikā, konstatējām būtisku atšķirību starp stratēģiju A un B ($p < 0.05$) un stratēģiju B un C ($p < 0.05$). Savukārt starp stratēģijām A un C būtiskas trakumsērgas izplatības atšķirības netika konstatētas ($p > 0.05$).

Trakumsērgas ORV stratēģiju efektivitātes parametru (vakcīnas ēsmu uzņemšana un imunitātes līmenis) analīze savvaļas lapsām un jēnotsuņiem (1991.-2011.g.)

Trakumsērgas ORV stratēģijas A ieviešanas laikā vakcīnas ēsmu uzņemšanas noteikšana savvaļas lapsām un jēnotsuņiem (mērķa sugu dzīvnieki) nebija iespējama, jo šajā periodā lietotā vakcīna nesaturēja bioloģisko marķieri – tetraciklīnu (TC). Imunitātes līmeņa noteikšana mērķa dzīvniekiem stratēģijas A laikā nebija iespējama, jo Latvijā šajā laikā nebija ieviestas seroloģiskās metodes trakumsērgas vīrusa neitralizējošo antivielu noteikšanai. Ņemot vērā šos faktus, ne vakcīnu saņēmušo mērķa sugu dzīvnieku īpatsvars, ne arī to imunitātes līmenis stratēģijas A laikā nav zināms.

Stratēģijas B un C laikā veiktās vakcīnas uzņemšanas analīzes rezultāti attēloti 4. attēlā.



4. att. Orālās vakcīnas uzņemšanas rezultāti (ar ticamības intervāliem) mērķa sugu dzīvniekiem B un C stratēģijas laikā

Fig. 4. Results of bait uptake rate (with confidence intervals) in target species during strategies B and C

Zinātniskajā literatūrā ir aprakstīts, ka tetraciklīna kā bioloģiskā marķiera noteikšana dod informāciju par iespējamiem trūkumiem vai nepilnībām trakumsērgas ORV kampaņās (The oral vaccination..., 2002). Ja vismaz 70% mērķa populācija noteiktā teritorijā ir saņēmusi vakcīnu, ar to vajadzētu pietikt, lai pārtrauktu trakumsērgas pārnesšanas ciklu lapsām (WHO Expert Consultation on rabies..., 2004, Brochier et al., 1988, Masson et al., 1999), tomēr ir pierādījumi, ka pat, nodrošinot mazākas populācijas daļas vakcināciju, trakumsērgu ir iespējams izskaust (Thulke and Eisinger, 2008).

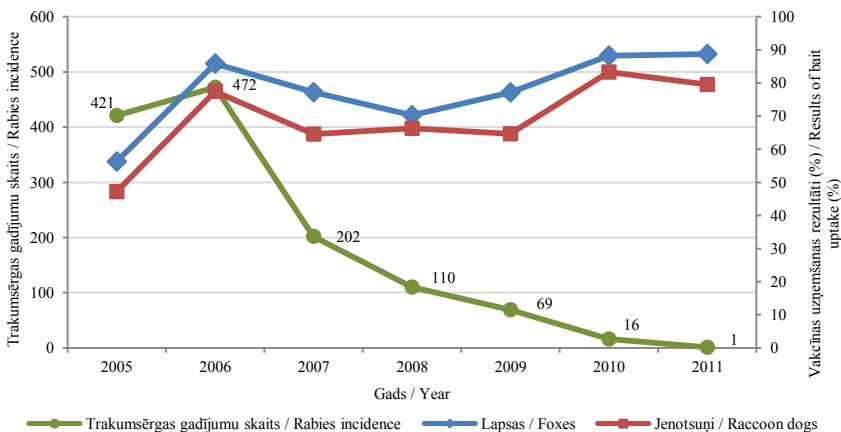
Trakumsērgas ORV stratēģijas B laikā izmeklējamo dzīvnieku skaita noteikšana netika veikta atbilstoši WHO rekomendācijām, bet gan pieejamā finansējuma ietvaros. Ņemot vērā, ka tetraciklīns pēc vakcīnas ēsmas apēšanas dzīvnieka kaulaudos saglabājas visu atlikušo mūžu, bet pirmie laboratoriskie izmeklējumi tetraciklīna noteikšanai tika veikti pēc vairāku gadu trakumsērgas ORV veikšanas, iespējams, ka mūsu iegūtos rezultātus ietekmē arī iepriekšējos gados veiktās trakumsērgas ORV kampaņas.

Kopā stratēģijas C laikā vakcīnas uzņemšanas noteikšanai izmeklēti 19 554 savvaļas dzīvnieki, no kuriem 13 972 lapsas un 5 572 jenotsuņi.

Izmeklēšanas laikā pozitīvi rezultāti konstatēti 10 933 lapsām (78.25%) un 3 866 jenotsuņiem (69.38%). Lapsām tetraciklīna noteikšanas pozitīvie rezultāti no 2005.g. – 2011.gadam variēja 56.30-88,72% robežās, bet jenotsuņiem 47.16-83.26% robežās. Lapsām visos stratēģijas C gados vakcīnas uzņemšanas izmeklējumu rezultāti bija augstāki par jenotsuņiem, tomēr statistiski būtiskas atšķirības starp abām sugām nekonstatējām ($p>0.05$). Vislabākie vakcīnas uzņemšanas rezultāti Latvijā sasniegti 2010.gadā – 88.22% lapsām un 83.26% jenotsuņiem, turklāt jenotsuņiem šis ir augstākais rezultāts visā pētījuma periodā. Ļoti iespējams, ka šie mūsu rezultāti ir saistīti ar SAD B19 vīrusa celmu saturošas vakcīnas Fuchsoral® (Impstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Vācija) lietošanu kopš 2008.gada rudens 3 gadus pēc kārtas un vienlaicīgi uzsākot vakcīnas ēsmu automātiskās izlikšanas iekārtas „Survis” izmantošanu, kas ļauj labāk novērtēt vakcīnas izlikšanu, jo katra izliktā vakcīnas deva ir reģistrēta kā punkts uz kartes. Tehnisku kļūmju dēļ teritorijas, kur vakcīna nav neizlikta, uzreiz ir redzamas un tur var veikt atkārtotu izlikšanu, aizpildot tukšumus. Cits iemesls vakcīnas uzņemšanas rezultātu salīdzināšanai ar citiem gadiem ORV stratēģijas C laikā varētu būt otras lietotās vakcīnas – SAD Bern vīrusa celma saturošās Lysvulpen® (Bioveta, Čehija) ēsmas nestabilitāti āra apstākļos pētījumā, kas veikts Lietuvā (Mačiulskis et al., 2008).

Clquet et al. (2012) savā pētījumā apraksta, ka 2008. un 2009.gadā lapsām tetraciklīns konstatēts attiecīgi 93% un 91%, bet jenotsuņiem 88% un 86%. Lietuvā veikto pētījumu rezultāti liecina, ka pēc trakumsērgas ORV veikšanas, izmantojot SAD Bern vakcīnas vīrusa celmu saturošu vakcīnu, tetraciklīns tika konstatēts 79.63% no izmeklētajām lapsām un 58.35% no 2009.gadā izmeklētajiem jenotsuņiem (European Commission, 2009). Salīdzinot Baltijas valstīs iegūtos rezultātus, redzam, ka Igaunijā, kur izmantota vakcīnas vīrusa celmu SAG2 saturoša vakcīna, tetraciklīna noteikšanas rezultāti ir ievērojami labāki nekā mūsu veiktajā pētījumā un arī Lietuvā, kur izmantotas citas vakcīnas. Tas zināmā mērā izskaidrojams ar SAG2 vīrusa celmu saturošās vakcīnas ēsmas sastāvu un kvalitāti, kas nodrošina augstu ēsmas izturību ārējo apstākļu ietekmē. Mačiulskis et al., (2008), savā pētījumā aprakstījis vīrusa celmu SAD Bern saturošās vakcīnas ēsmas nestabilitāti āra apstākļos (saulē un lietū), kā arī vakcīnas vīrusa titra samazināšanos. Jāuzsver, ka SAD Bern celmu saturošā vakcīna samērā plaši lietota arī Latvijā, kas zināmā mērā izskaidro Latvijā veikto pētījumu rezultātus.

Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka trakumsērgas gadījumu skaita samazināšanās sākās 2006.gadā, kad trakumsērgas orālo vakcīnu bija saņēmušas 85.83% no izmeklētajām lapsām un 77.45% no izmeklētajiem jenotsuņiem (5. attēls).



5. att. Orālās vakcīnas uzņemšanas rezultātu ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā stratēģijas C laikā

Fig. 5. Influence of vaccine bait uptake rate to rabies incidence in Latvia during strategy C

Imunitāte savvaļas dzīvniekiem pēc orālās vakcinācijas uzņemšanas, saskaņā ar dažādu komerciālo vakcīnu lietošanas instrukcijās norādīto, saglabājas aptuveni 12 mēnešus, tādēļ vakcinācija jāveic regulāri, nosakot mērķa sugu dzīvniekiem imunitātes līmeni.

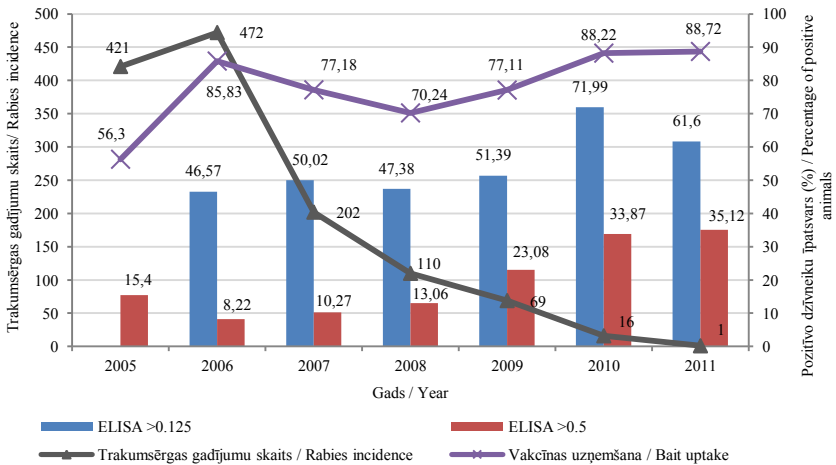
Imunitātes līmeņa noteikšanai stratēģijas C ieviešanas laikā ar ELISA testu izmeklēti 19 036 mērķa sugu dzīvnieki – 13 613 lapsas un 5 423 jenotsuņi. No izmeklētajām lapsām 3 780 (19.86%) un jenotsuņiem 1 026 (18.92%) antivielu līmenis asinīs pārsniedza 0.5 IU/ml. Savukārt, zemāku imunitātes līmeni (antivielu līmenis asinīs pārsniedz 0.125 IU/ml) no izmeklētajām 12 563 lapsām konstatējām 6890 (54.83%) un no izmeklētajiem 5 046 jenotsuņiem 2 756 (54.62%).

Gan lapsām, gan jenotsuņiem imunitātes līmenis kopš 2006.gada palielinājies, sasniedzot augstāko punktu 2010.gadā, kad lapsām tas bija 71.99%, bet jenotsuņiem pat 73.94%.

Salīdzinot imunitātes līmeņa noteikšanas rezultātus, kas iegūti, izmantojot dažādus antivielu līmeņus gan lapsām, gan jenotsuņiem konstatējām statistiski būtiskas ($p > 0.001$) atšķirības.

Analizējot vakcīnas uzņemšanas rezultātus lapsām, 6. attēlā redzams, ka trakumsērgas izplatība sāk samazināties, ja vismaz 85.83% izmeklēto lapsu ir saņēmušas orālo vakcīnu un turpina samazināties pat pie zemākiem rezultātiem. Savukārt, salīdzinot dažādus imunitātes līmeņus, konstatējām, ka trakumsērgas izplatība sāk samazināties, ja vismaz 46.57% no lapsām ir ieguvušas zemu

imunitātes līmeni (>0.125 IU/ml) vai vismaz 8.22% lapsu ieguvušas augstu imunitātes līmeni (>0.5 IU/ml).

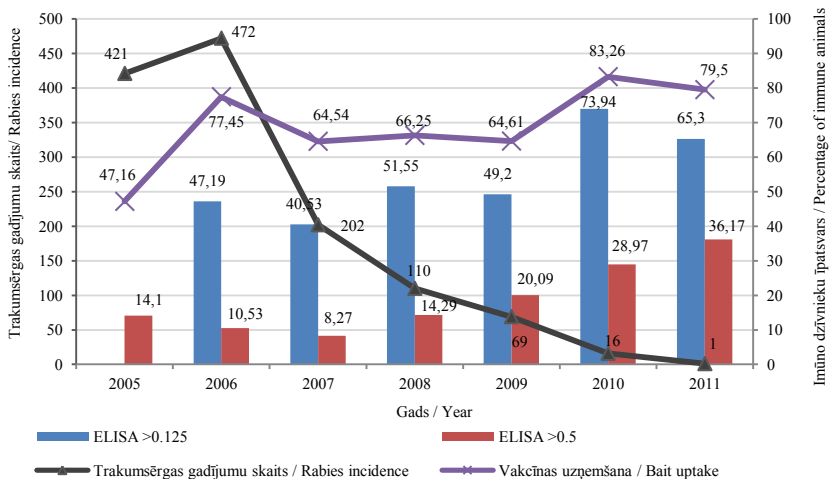


6.att. Lapsu dažādu imunitātes līmeņu un vakcīnas uzņemšanas rezultātu ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā

Fig. 6. Influence of different seroconversion and bait uptake rates in foxes to rabies incidence in Latvia

Salīdzinot dažādus imunitātes līmeņus un vakcīnas uzņemšanas rezultātus jenotsuņiem, 7. attēlā redzams, ka trakumsērgas izplatība sāk samazināties, ja vismaz 77.45% izmeklēto jenotsuņu ir saņēmuši orālo vakcīnu un turpina samazināties arī zemākiem rezultātiem. Savukārt, analizējot dažādus imunitātes līmeņus, konstatējām, ka trakumsērgas izplatība sāk samazināties, ja vismaz 47.19% no jenotsuņiem ir ieguvuši zemu imunitātes līmeni (>0.125 IU/ml) vai vismaz 10.53% no izmeklētajiem jenotsuņiem ieguvuši augstu imunitātes līmeni (>0.5 IU/ml) (7. attēls).

Analizējot ELISA testa rezultātus, konstatējām, ka imunitātes līmenis (>0.5 IU/ml) gan lapsām, gan jenotsuņiem stratēģijas C laikā ievērojami pieaudzis, augstāko rezultātu sasniedzot 2011.gadā, attiecīgi 35.12% lapsām un 36.17% jenotsuņiem. Viszemākais antivielu līmenis konstatēts lapsām 2006.gadā (8.22%) un jenotsuņiem 2007.g. (8.27%) (6. un 7.attēls).



7. att. Jenotsuņu dažādu imunitātes līmeņu un vakcīnas uzņemšanas rezultātu ietekme uz trakumsērgas izplatību Latvijā

Fig. 7. Influence of different seroconversion and bait uptake rates in foxes to rabies incidence in Latvia

Mūsu pētījuma rezultāti pierāda, ka vakcīnas uzņemšanas rezultāti gan lapsām, gan jenotsuņiem visas stratēģijas C laikā ir būtiski lielāki ($p < 0.05$) par augsta imunitātes līmeņa (> 0.5 IU/ml) rezultātiem (6. un 7.attēls).

Mūsu pētījumā 2005.-2011.g. iegūtie lapsu un jenotsuņu imunitātes rezultāti (ELISA, 0.5 IU/ml) lapsām variēja 8.22% - 35.12% un jenotsuņiem 8.27% - 36.17% robežās. Viszemākos imunitātes līmeņa rezultātus konstatējām 2006.un 2007.gadā, kad tika lietota SAD Bern vīrusa celma saturoša vakcīna Lysvulpen® (Bioveta, Čehija) – lapsām attiecīgi 8.22% un 10.27%, bet jenotsuņiem 10,53% un 8.27%.

Mūsu rezultāti ir salīdzināmi ar citās valstīs veikto līdzīgu pētījumu rezultātiem. Igaunijā pēc liela mēroga ORV kampaņām 2005. - 2006.gadā, izmantojot SAG2 (RABIGEN®, Virbac Laboratories, Francija) vakcīnu, imunitāte ar ELISA metodi (0.5 IU/ml) tika konstatēta 65% no izmeklētajiem jenotsuņiem un 64% no izmeklētajām lapsām (Niin et al., 2008). Lietuvā laika posmā no 2006.g – 2010.gadam izmeklētajiem jenotsuņiem imunitāte tika konstatēta 46,8% (Zienius et al., 2011), bet lapsām 2009 gadā imunitātes līmenis bija 49.85% (European Commission, 2009).

Salīdzinot imunitātes līmeņa noteikšanas rezultātus, kas iegūti, izmantojot antivielu līmeņus 0.125 un 0.5 IU/ml, gan lapsām, gan jenotsuņiem konstatējām statistiski būtiskas ($p > 0.001$) atšķirības. ELISA testa pētījumu rezultāti lapsām liecina, ka tests spēj noteikt antivielu līmeni, kas ir aptuveni 0.2 IU/ml, bet, lai izslēgtu viltus pozitīvus rezultātus, suņiem, kaķiem un

lapsām tika izvēlēts antivielu noteikšanas sliekšnis 0.5 IU/ml (Cliquet et al., 2007), tomēr nav skaidrs, kāds ir zemākais antivielu līmenis dzīvnieka organismā, lai pasargātu dzīvniekus no saslimšanas ar trakumsērgu. Ņemot vērā mūsu pētījuma rezultātus, jo īpaši trakumsērgas izplatības straujo samazināšanos ORV stratēģijas C laikā, varam pieņemt, ka lapsas un jēnotsuņi, kam konstatēts zemāks antivielu līmenis par 0.2 IU/ml arī varētu būt pasargāti no saslimšanas.

Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka laika posmā no 2006. – 2011. gadam palielinājās gan dzīvnieku skaits, kam vispār tika konstatētas antivielas pret trakumsērgas vīrusu, gan dzīvnieku skaits ar augstu imunitātes sliekšni – 0.5 IU/ml. Laikā no 2008.-2010. gadam lapsām novērojām būtisku ($p < 0.05$) pieaugumu gan vakcīnas ēsmu uzņemšanas rezultātos (no 70.24% līdz 88.22%), gan zema līmeņa (>0.125 IU/ml) imunitātes rezultātos (no 47.3% līdz 71.99%), gan arī augsta līmeņa (>0.5 IU/ml) imunitātes rezultātos (no 13.06% līdz 33.87). Turklāt, šajā periodā konstatējām arī ciešas korelācijas starp vakcīnas ēsmu uzņemšanas rezultātiem un zema līmeņa (0.125 IU/ml) imunitātes rezultātiem ($r = 0.97$), starp vakcīnas ēsmu uzņemšanas rezultātiem un augsta līmeņa (>0.5 IU/ml) imunitātes rezultātiem ($r = 0.99$). Pēc šiem rezultātiem mēs varam secināt, ka laika periodā no 2008. līdz 2010. gadam ORV kampaņas ir bijušas visefektīvākās, ko apliecina arī reģistrēto saslimšanas gadījumu skaita samazināšanos dzīvniekiem attiecīgi no 110 līdz 16 gadījumiem. Ļoti iespējams, ka labos rezultātus deva vakcīnas maiņa, jo pēc divu gadu SAD Bern vīrusa celma saturošās Lysvulpen® (Bioveta, Čehija) lietošanas no 2008. gadā rudens tika uzsākta SAD B19 vīrusa celmu saturošās vakcīnas Fuchsoral® (Impstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Vācija) lietošana. Iespējams, ka būtiska loma labo rezultātu sasniegšanā ir arī vakcīnas ēsmu automātiskās izlikšanas iekārtas „Survis” izmantošanai, kas ļauj labāk novērtēt vakcīnas izlikšanu, jo katra izliktā vakcīnas deva ir reģistrēta kā punkts uz kartes. Tehnisku kļūmju dēļ teritorijas, kur vakcīna nav neizlikta, ir redzamas un tur var veikt atkārtotu izlikšanu, aizpildot tukšumus. Vēl viens iemesls labo rezultātu sasniegšanā varētu būt ieviestās izmaiņas vakcīnas uzglabāšanā, jo kopš 2008. gada rudens vakcīna tiek piegādāta tieši uz lidlauku un glabāta tur pārvietojamā saldētavā visu ORV kampaņas laiku, nodrošinot nemainīgu temperatūras režīmu.

Lai analizētu trakumsērgas ORV efektivitātes rezultātu iespējamo ietekmi uz slimības ģeogrāfisko lokalizāciju un perēkļa veidošanos Kurzemes reģionā (2007.-2010. g.), salīdzinājām ORV efektivitātes rezultātus Kurzemes reģionā ar visas valsts kopējiem rezultātiem. Analīzes rezultātā nekonstatējām būtisku atšķirību vakcīnas uzņemšanas rezultātiem ne starp lapsām, ne starp jēnotsuņiem ($p > 0.05$). Tāpat nekonstatējām arī būtiskas atšķirības abām sugām augsta līmeņa imunitātes rezultātos ($p > 0.05$). Tomēr, salīdzinot zemāka imunitātes līmeņa (>0.125 IU/ml) rezultātus lapsām, Kurzēmē konstatējām būtiski zemākus ($p < 0.05$) rezultātus, savukārt jēnotsuņiem šī atšķirība nebija būtiska. Iespējams, ka iemesls šiem zemajiem imunitātes līmeņa rezultātiem

lapsām Kurzemē varētu būt 2008.gadā nepilnīgi veiktā un novēloti uzsāktā trakumsērgas ORV kampaņa sakarā ar ieilgušu vakcīnas iepirkuma konkursu. Otrs iemesls varētu būt salīdzinoši lielais mežu un krūmāju īpatsvars Kurzemē un, iespējams arī lielāka lapsu populācija, bet, jāatzīmē, ka šo hipotēzi būs grūti pārbaudīt, jo Latvijā nav pieejami precīzi dati par savvaļas dzīvnieku skaitu dažādos reģionos. Trešais iemesls varētu būt temperatūras režīma neievērošana vakcīnas uzglabāšanas laikā.

Trakumsērgas vīrusa noteikšana ORV stratēģijas C efektivitātes noteikšanas ietvaros izmeklēšanai iesūtītajām lapsām un jēnotsuņiem

Salīdzinot trakumsērgas ORV stratēģijas C efektivitātes novērtēšanas ietvaros dzīvniekiem atklāto trakumsērgas gadījumu skaitu ar trakumsērgas gadījumu skaitu, kas atklāts trakumsērgas uzraudzības ietvaros (aizdomu gadījumi), konstatējām, ka ORV stratēģijas C efektivitātes novērtēšanas ietvaros atklāto trakumsērgas gadījumu skaits ir būtiski mazāks ($p < 0.05$) (2. tabula).

2. tabula/Table 2

Trakumsērgas ORV stratēģijas C efektivitātes novērtēšanas ietvaros un trakumsērgas uzraudzības ietvaros atklāto trakumsērgasgadījumu skaits *Number of rabies cases confirmed in a frame of rabies passive surveillance and rabies ORV efficacy control during strategy C*

Gads/ Year	Trakumsērgas ORV efektivitāte (lapsas un jēnotsuņi)/ <i>Efficacy of rabies ORV (foxes and raccoon dogs)</i>		Trakumsērgas uzraudzība (visi dzīvnieki)/ <i>Rabies passive surveillance (all species)</i>	
	n	IFM pozitīvs rezultāts (%)/ <i>FAT positive result</i>	n	IFM pozitīvs rezultāts (%)/ <i>FAT positive result</i>
2005	1883	25 (1.33)	1140	396 (34.74)
2006	3955	25 (0.63)	1032	447 (43.31)
2007	4578	28 (0.61)	899	174 (19.35)
2008	2522	6 (0.24)	970	95 (9.79)
2009	0	0	714	64 (8.96)
2010	1828	0	488	16 (3.28)
2011	2269	0	485	1 (0.21)
Kopā/ Total	17035	84 (0.49)	5728	1 193 (20.83)

Vairākās starptautiskās vadlīnijās (The oral vaccination..., 2002, Cliquet et al., 2010) rekomendēts trakumsērgas ORV stratēģiju efektivitātes noteikšanai

lapsas un jenotsuņus no ORV teritorijām papildus izmeklēt arī trakumsērgas vīrusa klātbūtnes noteikšanai, izmantojot IFM metodi.

Lai analizētu trakumsērgas ORV stratēģijas C efektivitātes novērtēšanas ietvaros atklāto slimo dzīvnieku saslimšanas iemeslus, apkopojām šiem dzīvniekiem veikto luminiscētās mikroskopijas un ELISA testu rezultātus.

Mūsu pētījuma ietvaros stratēģijas C laikā no visas Latvijas teritorijas trakumsērgas vīrusa noteikšanai izmeklētas 12 402 lapsas, no kurām 54 (0.43%) konstatēts trakumsērgas vīruss un 4 633 jenotsuņi, no kuriem 30 (0.64%) konstatēts trakumsērgas vīruss. Jāuzsver, ka nevienam no konstatētajiem slimajiem dzīvniekiem, netika konstatēts vakcīnas izcelsmes vīruss, kas apliecina, ka C stratēģijas laikā izmantotās orālās vakcīnas ir drošas mērķa dzīvniekiem un neizraisa saslimšanu. Saslimušo dzīvnieku attiecība (0.49%) ir ļoti maza salīdzinājumā ar rutīnas pasīvās uzraudzības (klīnisko aizdomu konstatēšana) ietvaros atklātajiem dzīvnieku saslimšanas gadījumiem no 2005.-2011.gadam (20.83%). No iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka trakumsērgas ORV efektivitātes noteikšanai nomedītās lapsas un jenotsuņus ir nelietderīgi (arī neekonomiski) izmeklēt trakumsērgas vīrusa noteikšanai.

Izmaksu efektivitātes analīze Latvijā izmantotajām trakumsērgas orālās vakcinācijas stratēģijām (1991.-2011.g.)

Tā kā datu ievākšanas un apkopošanas procesā nebija iespējams iegūt datus par trakumsērgas ORV stratēģiju A un B izmaksām, izmaksu efektivitātes analīzi sākām ar stratēģiju C, kuras izmaksas norādītas 3. tabulā.

3. tabula/Table 3

Trakumsērgas ORV stratēģijas C galvenās izmaksas *The main costs of rabies ORV strategy C*

Gads/ Year	Vakcīnas izmaksas (Ls)/ Costs of vaccine (LVL)	Vakcīnas izlietošanas izmaksas (Ls)/ Costs of vaccine distribution (LVL)	ORV efektivitātes noteikšanai veikto laboratorisko testu izmaksas (Ls)/ Costs of laboratory tests for evaluation of ORV efficacy (LVL)	Vakcīnas uzglabāšanas izmaksas (Ls)/ Costs of vaccine storage (LVL)	Samaksa medniekiem (Ls)/Fee for hunters (LVL)	Kopējās izmaksas gadā (Ls)/ Total costs per year (LVL)
2005	399280	99757	57307	2018	13244	558362
2006	957320	135150	97614	3895	27706	1221684
2007	767494	261960	113898	4039	31696	1179087
2008	236135	98652	62464	3923	21847	423020
2009	760872	202540	47011	0	16191	1026614
2010	925000	320000	65301	0	13643	1323944
2011	629662	434131	71949	0	9555	1145297
Kopā Total	4675762	1552190	515544	13874	133882	6891252

Analizējot datus par trakumsērgas ORV stratēģijas C izmaksām (kopējās izmaksas 6 891 251.89 LVL), konstatējām, ka 90.37% no kopējām izmaksām sastāda vakcīnas iegādes un vakcīnas izlikšanas izmaksas. Līdzīgs pētījums veikts Igaunijā, kur trakumsērgas ORV programmas ieviešanai laika posmā no 2005.g.-2010.gadam iztērēts 11 985 192.70 EUR, no kuriem 91.3% sastāda vakcīnas iegādes un izlikšanas izmaksas (Cliquet et al., 2012). Savukārt, Francijā no 1988.gada līdz 1993.gadam veiktā pētījuma rezultāti liecina, ka vakcīnas iepirkšanas un izlikšanas izmaksas sastādīja 92.9% no kopējām vakcinācijas kampaņas ieviešanas izmaksām (Aubert 1999).

Ņemot vērā faktu, ka 90.37% no kopējām trakumsērgas ORV stratēģijas C izmaksām sastāda vakcīnas iegādes un vakcīnas izlikšanas izmaksas, un abas no tām ir tieši atkarīgas no teritorijas lieluma, kurā tiek veikta orālā vakcinācija, izmaksu efektivitātes aprēķinu veikšanai kumulatīvās izmaksas (Ls) aizvietojam ar kumulatīvo vakcinētās teritorijas laukumu (km^2).

Salīdzinot iegūtos determinācijas koeficientus (attiecīgi $R^2=0.8718$ un $R^2=0.8535$), konstatējām, ka tie būtiski neatšķiras, līdz ar to kumulatīvās vakcinētās teritorijas laukuma dati (km^2) izmantojami kā izmaksu atspoguļojums un tos izmantojam stratēģiju A un B izmaksu efektivitātes aprēķinu veikšanai.

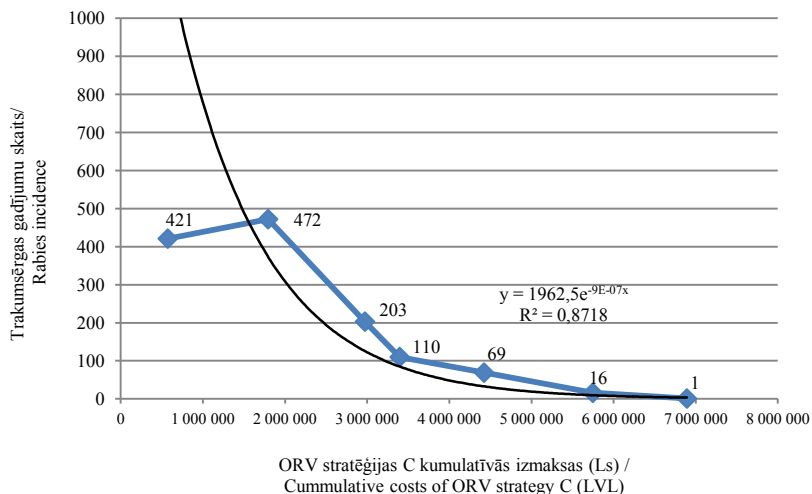
Trakumsērgas ORV stratēģijas C laikā vidējās ieviešanas izmaksas uz vienu kvadrātkilometru vakcinētās teritorijas bija 18.90 LVL jeb 26.90 EUR (aprēķiniem izmantotais valūtas kurss – 1 EUR = 0.7028 LVL) gadā.

Ir publicēti ļoti maz zinātniskie raksti, kur analizēti trakumsērgas apkarošanas programmu ekonomiskie aspekti. Francijā no 1988.gada līdz 1993.gadam veiktā pētījuma rezultāti liecina, ka trakumsērgas ORV kampaņu ieviešanas izmaksas uz vienu kvadrātkilometru bija 56 ASV dolāri gadā (Aubert, 1999), kas, salīdzinot ar mūsu pētījuma rezultātiem, ir ievērojami vairāk ($p < 0.05$).

Citā pētījumā aprakstīts, ka gada izmaksas (vakcīnas iegādei, izlikšanai un ORV efektivitātes noteikšanai), lai ieviestu aizsargzonu (buferzonu) Eiropas Savienības teritorijas (no trakumsērgas brīvas) pasargāšanai no trakumsērgas, atkarībā no valsts aptuvenās izmaksas varētu būt 37-69 EUR/ km^2 (Freuling et al., 2008). Šīs izmaksas ir ievērojami augstākas par mūsu pētījuma rezultātā aprēķinātajām (26.90 EUR/ km^2). Ņemot vērā mūsu pētījumā aprēķinātās trakumsērgas ORV vidējās izmaksas uz vienu kvadrātkilometru gadā (18.90 LVL), lai uzturētu 50 km ORV buferzonu Latvijas teritorijā – Krievijas Federācijas un Baltkrievijas pierobežā (kopējais robežas garums – 417 km), kopējās izmaksas gadā sastādītu aptuveni 400 000 LVL, turklāt jāņem vērā, ka Eiropas Komisija līdzfinansē 75% no šīm izmaksām.

Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka, analizējot visu pētījuma periodu kopā (1991.-2011.g.), izmaksu efektivitāte ir tikai 61% ($R^2=0.61$). ORV stratēģijām A un B izmaksu efektivitāte bija zema (attiecīgi $R^2=0.012$ un $R^2=-0.60$), jo būtiska trakumsērgas izplatības samazināšanās netika novērota, bet visaugstāko izmaksu efektivitāti konstatējām ORV stratēģijai C ($R^2=0.87$).

Trakumsērgas ORV stratēģijas C izmaksu ietekme uz trakumsērgas izplatību (izmaksu efektivitāte) attēlota 8. attēlā.



8. att. Trakumsērgas ORV stratēģijas C izmaksu efektivitāte (Ls)

Fig. 8. Cost efficiency (Ls) of rabies ORV strategy C

Kopumā, analizējot visu pētījuma periodu, konstatējām, ka izmantojot dažādas trakumsērgas apkarošanas stratēģijas, rezultāti bija ļoti atšķirīgi. Lielā mērā trakumsērgas apkarošanas pasākumu efektivitāte ir atkarīga no pieejamā finansējuma. Trakumsērgas ORV kampaņu ieviešanas izmaksas ir lielas, tādēļ valstīs tiek meklētas alternatīvas – lētākas trakumsērgas apkarošanas stratēģijas, tomēr to efektivitāte līdz šim nav attaisnojusi, ko uzskatāmi pierāda arī mūsu pētījuma rezultāti. Trakumsērgas apkarošanas programma valstī ir jābalsta uz starptautisko rekomendāciju pamata, tai jābūt ilglaicīgai (vismaz 5-6 gadi) un kvalitatīvai, nodrošinot pilnvērtīgu kontroli visos programmas ieviešanas posmos. Finansējums šādai programmai ir jānodrošina ilgtermiņā, lai nepieļautu programmas pārtraukšanu, tādējādi riskējot paildzināt trakumsērgas apkarošanas kopējo laiku valstī.

Trakumsērgas apkarošanas stratēģijas veiksmi tieši ietekmē arī valsts publiskos iepirkumus reglamentējošā likumdošana, kura Latvijā nosaka valsts iestādēm iegādāties lētāko tehniskās specifikācijas prasībām atbilstošu vakcīnu. Kā zināms, ne vienmēr lētākā prece ir tā labākā. To uzskatāmi redzam, salīdzinot Latvijas trakumsērgas ORV efektivitāti ar Igauniju, kur tiek lietota augstākas kvalitātes trakumsērgas orālā vakcīna un 2-3 gadu laikā Igaunijā izdevās izskaust trakumsērgu. Ņemot vērā šos faktus, lētākas un minimālajām prasībām atbilstošas vakcīnas izmantošana trakumsērgas apkarošanai var prasīt daudz vairāk laika un finansējuma, nekā augstas kvalitātes vakcīnas lietošana.

Šie finansiālie apsvērumi ir jāņem vērā plānojot trakumsērgas apkarošanas programmas ieviešanu.

SECINĀJUMI

1. No pētījuma periodā (1991.-2011.g.) reģistrētajiem trakumsērgas gadījumiem ievērojami lielāka ($p < 0.001$) saslimšanas gadījumu attiecība tika konstatēta savvaļas dzīvniekiem - 78.45%, savukārt mājdzīvniekiem tikai 21.55%. Šī procentuālā attiecība starp savvaļas dzīvniekiem un mājdzīvniekiem būtiski nemainījās dažādu ORV stratēģiju ietekmē, kas liecina par trakumsērgas endēmisku izplatību Latvijā, galvenokārt, savvaļas dzīvnieku vidū un rezervuāru sugu – lapsu un jenotsuņu lomu trakumsērgas epidemioloģijā.
2. No 1991.-2004.g. orālās vakcinācijas efektivitāti bija iespējams novērtēt tikai pēc viena no trīs rekomendētajiem rādītājiem - trakumsērgas izplatības, kura 1991.-1997.g. būtiski nemainījās, bet 1998.-2004.g. pat paaugstinājās. Periodā no 2005.-2011.g. veiktie testu rezultāti (vakcīnas uzņemšana un dzīvnieku imunitātes līmenis) liecina par efektivitāti, kas sekmēja trakumsērgas epidemioloģiskās situācijas būtisku uzlabošanos.
3. Pētījuma periodā (1991.-2011.g.) izmantotajām trakumsērgas orālās vakcinācijas stratēģijām veiktā izmaksu efektivitātes analīze liecina, ka no 1991.-2004.g. ieguldītie resursi nav devuši rezultātu šis periods uzskatāms par finansiāli neefektīvu.
4. Stratēģija C (2005.-2011.g.), kuras laikā tika veikta liela mēroga ORV, neskatoties uz lielajām ieviešanas izmaksām, uzskatāma par efektīvu trakumsērgas endēmiskā valstī, jo trakumsērgas izplatība būtiski ($p < 0.05$) samazinājās.
5. Stratēģijas C (2005.-2011.g.) laikā pat zems imunitātes līmenis (>0.125 IU/ml) (rekomendētā >0.5 IU/ml vietā) pasargāja lapsas un jenotsuņus no inficēšanās un veicināja trakumsērgas izplatības strauju samazināšanos.
6. Stratēģijas C (2005.-2011.g.) laikā imunitātes līmenis (>0.5 IU/ml) lapsām un jenotsuņiem bija augstāks SAD B19 vīrusa celmu saturošas vakcīnas lietošanas laikā.
7. Trakumsērgas orālās vakcinācijas 2005.-2011.g. stratēģijas laikā kampaņu efektivitātes novērtēšanas ietvaros, izmeklējot nomedītos savvaļas dzīvniekus (lapsas un jenotsuņus), tikai 0.49% dzīvnieku tika atklāta trakumsērga.

PRIEKŠLIKUMI

turpmākai trakumsērgas apkarošanas un profilakses stratēģijai atbilstoši trakumsērgas izplatības izmaiņām Latvijā

Pētījuma perioda beigās – 2011.gadā Latvijā tika reģistrēts tikai viens trakumsērgas gadījums. Saskaņā ar starptautiskām rekomendācijām (The oral vaccination..., 2002) orālā vakcinācija valstī jāturpina vēl vismaz divus gadus pēc pēdējā trakumsērgas gadījuma apstiprināšanas. Tomēr, trakumsērgas apkarošanas procesa beigās valstī tiek reģistrēti ļoti maz trakumsērgas gadījumi, tādēļ ļoti svarīga ir šo gadījumi lokalizācija, jo no tās ir atkarīga piemērotāko slimības apkarošanas pasākumu izvēle.

Šobrīd, kad abas Latvijas kaimiņvalstis Baltijas reģionā – Lietuva un Igaunija veic trakumsērgas apkarošanu izmantojot orālo vakcināciju, vislielākā iespējamība reģistrēt jaunus trakumsērgas gadījumus ir Latvijas Austrumu daļā – Krievijas Federācijas un Baltkrievijas pierobežā, jo šajās valstīs trakumsērga ir plaši izplatīta un netiek veikti slimības epidemioloģiskai situācijai atbilstoši apkarošanas pasākumi. Tādēļ, lai iespējami precīzi novērtētu katru jaunu saslimšanas gadījumu pierobežā, ir svarīga regulāra laba sadarbība un informācijas apmaiņa ar kaimiņvalstīm.

Ja trakumsērgas gadījumi turpmākajos gados tiks konstatēti tikai Latvijas austrumu daļā, iespējams, ka savvaļas dzīvnieku ORV varētu veikt tikai šajā Latvijas daļā, veidojot ORV buferzonu 50 km platumā visas Krievijas Federācijas un Baltkrievijas pierobežas garumā (463 km). Šāda stratēģija ļautu ievērojami samazināt trakumsērgas ORV izmaksas, nodrošinot tādu pat efektivitātes līmeni kā ORV stratēģija C. Šādas buferzonas uzturēšana Latvijas teritorijā būtu nepieciešama tik ilgi, kamēr Krievijas Federācijā un Baltkrievijā tiktu ieviestas mērķtiecīgas ilgtermiņa trakumsērgas apkarošanas stratēģijas, kuru rezultātā ievērojami uzlabotos slimības epidemioloģiskā situācija un Latvijā līdz minimumam samazinātos trakumsērgas ievazāšanas iespējas ar sliem savvaļas dzīvniekiem.

Kad Latvijā trakumsērgas gadījumi nebūs reģistrēti vismaz divus gadus pēc kārtas un ar trakumsērgu slimu savvaļas dzīvnieku iekļūšanas iespējamība no Krievijas Federācijas un Baltkrievijas būs niecīga, Latvija varēs pretendēt uz trakumsērgas brīvas valsts statusu. Pēc brīvas valsts statusa iegūšanas Latvijā trakumsērgas ORV vairs nebūs jāveic, bet joprojām būs jānodrošina efektīva trakumsērgas pasīvā uzraudzība – klīniski slimo, aizdomīgo un ar trakumsērgai līdzīgām pazīmēm nobeigušos savvaļas dzīvnieku un mājdzīvnieku laboratoriskā izmeklēšana. Tāpat obligāta paliks suņu kaķu un mājas, istabas sesku profilaktiskā vakcinācija pret trakumsērgu, bet tās biežums būtu jāsamazina no šobrīd Latvijas Republikas likumdošanā noteiktās vienas reizes gadā līdz tādām biežumam, kādu to noteicis attiecīgās vakcīnas ražotājs.

Tomēr, ja Latvijā kā no trakumsērgas brīvā valstī dzīvniekam tiktu konstatēts saslimšanas gadījums ar trakumsērgu, tālākai rīcībai jābūt atkarīgai no tā, vai saslimšana konstatēta mājdzīvniekam vai savvaļas dzīvniekam.

Mājdzīvnieka saslimšanas gadījumā ieteicamie trakumsērgas apkarošanas pasākumi (no trakumsērgas brīvā valstī):

- detalizētas epidemioloģiskās izmeklēšanas veikšana, ar mērķi noskaidrot dzīvnieka iespējamo inficēšanās laiku, vietu un cēloņus (iespējama ceļošana ar dzīvnieku ārpus Latvijas, kontakts ar savvaļas dzīvnieku utt.);
- tālāko pasākumu ieviešana atkarīga no epidemioloģiskās izmeklēšanas rezultātiem – ja konstatēts, ka slimais mājdzīvnieks bijis kontaktā ar savvaļas dzīvnieku Latvijā, kā rezultātā, iespējams, inficējies – trakumsērgas apkarošanas pasākumi būs tādi paši kā saslimšanas gadījumu konstatējot savvaļas dzīvniekam.

Savvaļas dzīvnieka saslimšanas gadījumā ieteicamie trakumsērgas apkarošanas pasākumi (no trakumsērgas brīvā valstī):

- savvaļas dzīvnieku (lapsu un jenotsuņu) veselības stāvokļa pastiprināta uzraudzība – atrasto beigto dzīvnieku nosūtīšana laboratoriskai izmeklēšanai trakumsērgas vīrusa noteikšanai, kā arī nepieciešamības gadījumā medību organizēšana un nomedīto lapsu un jenotsuņu nosūtīšana laboratoriskai izmeklēšanai, ar mērķi izzināt trakumsērgas epidemioloģisko situāciju attiecīgajā apvidū;
- ārkārtas trakumsērgas ORV kampaņas nekavējoša uzsākšana (izņemot ziemu, kad gaisa temperatūra ir zemāka par 0°C) 25-50 km rādiusā ap vietu, kur savvaļas dzīvniekam konstatēta saslimšana (trakumsērgas skartais punkts);
- ORV teritorijas lielums jānosaka izmantojot dabīgās barjeras – ezerus un upes, kas Latvijas apstākļos nav retums, bet ORV teritorija nedrīkst būt mazāka par 2 000 km²;
- ārkārtas trakumsērgas ORV kampaņas laikā izliekamo orālās vakcīnas ēsmu blīvums ir atkarīgs no savvaļas dzīvnieku populācijas lieluma attiecīgajā teritorijā, bet tam nevajadzētu būt mazākam par 25 ēsmām un vienu kvadrātkilometru;
- ja noteiktajā ORV teritorijā 30 dienu laikā tiek atkārtoti reģistrēts jauns trakumsērgas saslimšanas gadījums vai vairāki, šajā teritorijā jāveic atkārtota ārkārtas trakumsērgas ORV kampaņa;
- ārkārtas trakumsērgas ORV kampaņas efektivitātes novērtēšana, izmeklējot nomedītās lapsas un jenotsuņus vakcīnas uzņemšanas (tetraciklīna klātbūtne kaulaudos) un imunitātes līmeņa noteikšanai, nav nepieciešama.

Attiecībā uz mājdzīvnieku profilaktisko vakcināciju, kuru šobrīd saskaņā ar Veterinārmedicīnas likuma 59.panta 14.punktu dzīvnieku īpašniekam noteikts par pienākumu veikt suņiem, kaķiem un mājas (istabas) seskiem ne vēlāk kā no triju mēnešu vecuma un turpmāk vienu reizi gadā, ņemot vērā trakumsērgas epidemioloģiskās situācijas būtisku uzlabošanos, nepieciešams veikt izmaiņas Latvijas Republikas likumdošanā. Lai samazinātu slogu mājas un istabas dzīvnieku īpašniekiem, iesakām suņiem, kaķiem un mājas (istabas) seskiem noteikt par obligātu prasību vakcināciju pret trakumsērgu veikt saskaņā ar attiecīgās vakcīnas lietošanas instrukciju, nevis vairs vienu reizi gadā.

Runājot par trakumsērgas profilakses pasākumiem lauksaimniecības dzīvniekiem, iesakām veikt to dzīvnieku profilaktisko vakcināciju pret trakumsērgu (saskaņā ar vakcīnas lietošanas instrukciju), kuri tiek laisti ganībās Latvijas teritorijā – Krievijas Federācijas un Baltkrievijas pierobežas zonā (30-40 km). Ņemot vērā, ka Krievijas Federācijas un Baltkrievijas teritorijā vēl ir plaši izplatīta trakumsērga arī savvaļas dzīvnieku vidū, pastāv risks, ka šie inficētie dzīvnieki var šķērsot robežu un apdraudēt Latvijas lauksaimniecības dzīvnieku.

ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS UN TĒZES

1. Oļševskis E., Lamberga K. un Liepiņš E. (2012) Cost efficiency of rabies oral vaccination strategies implemented in Latvia from 1991 to 2011. *Proceedings of International Scientific Conference „Animal. Health. Food Hygiene”*, Jelgava, 2012, pp.108-113.
2. Oļševskis E., Liepiņš E., Jēgers E. and Lamberga K. (2012) Evaluation of various rabies elimination strategies in Latvia. *Compendium of the OIE Global Conference on Rabies Control*, Eds.: A.R. Fooks and T. Müller, World Organization for Animal Health, Paris, France, pp.215-221.
3. Oļševskis E., Liepiņš E. and Lamberga K. (2011) Evaluation of different rabies eradication strategies applied in Latvia from 1991 to 2010. *Abstract book: OIE Global Conference on Rabies Control held in Seoul, Republic of Korea*, September 7-9, 2011, p.57.
4. Oļševskis E., Liepiņš E., Lamberga K., and Rodze I. (2011) Efficacy of the first large-scale rabies oral vaccination campaigns in Latvia during 2005. *Proceedings of International Scientific Conference „Research for Rural development 2011”*, Vol.1, 18-21 May 2011, Jelgava, LLU, pp.166-172.
5. Oļševskis E., Liepiņš E. (2010) Rabies oral vaccination in Latvia – past, present and future. *Proceedings of International Scientific Conference „Animal. Health. Food Hygiene”*, Jelgava, 2010, p. 169.

INTRODUCTION

Rabies is still a global scale, virus-induced zoonosis with a huge adverse impact on the public health, agriculture and economy (Eisinger et al., 2005; Rupprech et al., 2006). The annual morbidity and mortality of rabies in the world is about 40 000-55 000 people, mostly in Asia (56%) and Africa (44%) and about 99% of rabies cases among humans are due to a bite of a dog infected with rabies (WHO Expert Consultation on rabies..., 2004; Bourhy et al., 2005). Furthermore, in Europe alone, annually about ten million people receive an anti-rabies treatment after bites from potentially infected animals (Bourhy et al., 2005).

In many places of the world, rabies is widespread among the wild animals which often also serve as wildlife reservoirs of the rabies virus. In Europe, the most wide-spread wildlife reservoirs are red foxes (*Vulpes vulpes*) (The oral vaccination..., 2002).

Traditional rabies control methods used mostly oriented towards reduction of the wild animals' population turned out expensive and ineffective (Smreczak and Źmudzinski, 2005). Since 1978, when the first practical trials were made in Switzerland to carry out oral vaccination, the largest part of the European countries, thanks to implementation of the oral vaccination strategy have become free from rabies (Steck et al., 1982; Wandeler et al., 1988; Bourhy et al., 2005).

In Latvia, rabies is an endemic disease since the 19th century and since 1963, it has been found mainly in wild animals (Westerling et al., 2004). The virus reservoirs in Latvia are red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*). In Latvia, annually a number of rabies cases are registered for different species of animals. Over the last 20 years, 3 cases of rabies in humans have also been identified in Latvia. Despite the fact that preventive vaccination against rabies for dogs and cats is mandatory here, dogs and cats are the most frequent victims of this disease.

The oral vaccination of foxes and raccoon dogs with an aim of eliminating rabies has been started in different districts of Latvia in 1991 and since that time, different oral vaccination strategies have been applied, however Latvia has not yet become a rabies-free country.

In European countries a number of research studies have been performed on prevalence of rabies, use of oral vaccination in its control, as well as on efficiency evaluation of the oral vaccination (The oral vaccination..., 2002, Vitasek, 2004). In Latvia just a few small studies have been performed, covering a limited time period.

Therefore, **the aim of the present study** was evaluation of rabies control in Latvia over the time period 1991-2011 through analysis of the oral vaccination of wild animals and development of proposals for the follow-up activities in accordance with changes of the rabies prevalence.

Objectives of the study

1. Analyse the impact of the oral vaccination strategies on rabies prevalence in Latvia over the time period 1991-2011.
2. Compare the efficiency parameters of oral vaccination against rabies (vaccine bait uptake and herd immunity) among foxes and raccoon dogs depending upon the particular oral vaccination strategy applied (1991-2011).
3. Carry out cost efficiency analysis for the oral vaccination strategies applied in Latvia (1991-2011).
4. Development of proposals for further rabies prevention-control strategies in line with the trends of rabies prevalence in Latvia.

Scientific novelty of the study

1. Rabies continues to be a topical problem globally and in Latvia.
2. For the first time in Latvia, the efficiency analysis have been carried out of the rabies control process embracing a long research period which includes the whole time span since the oral vaccination was started to be used (1991-2011).
3. For the first time in Latvia the cost effectiveness analysis of oral vaccination as a rabies control method was performed.
4. “The success story of Latvia” serves as an example to countries where rabies is an endemic disease to choose the most efficient control strategy.

Approbation of the research results

The research results are approbated in the following scientific conferences:

1. E.Oļševskis, K.Lamberga, E.Liepiņš. Cost efficacy of rabies oral vaccination strategies implemented in Latvia from 1991 to 2011”, International Scientific Conference “Animals. Health. Food hygiene”. 22-23th November, 2012, Jelgava, Latvia
2. E.Oļševskis, E.Liepiņš, K. Lamberga. Evaluation of different rabies eradication strategies applied in Latvia from 1991 to 2010. “OIE Global conference on Rabies control: Towards Sustainable Prevention at the Source” no 7-9th September, 2011, Incheon – Seoul, Republic of Korea
3. E.Oļševskis, E.Liepiņš, K.Lamberga, I.Rodze. Efficacy of the first large scale rabies oral vaccination campaigns in Latvia during 2005.

International Scientific Conference “Research for Rural Development”, 18-20th May, 2011, Jelgava, Latvia

4. E.Oļševskis, E.Liepiņš. Rabies oral vaccination in Latvia – past, present and future. International Scientific Conference “Animals. Health. Food hygiene”. 29th October, 2010, Jelgava, Latvia

MATERIAL AND METHODS

Within the framework of the present Promotional Thesis we analysed Food and Veterinary Service (FVS) data on the prevalence in rabies in Latvia, the implementation of the rabies control program, as well as the laboratory testing results obtained at BIOR, Research Institute of Food Safety, Animal Health and Environment (up to 1 January 2010, National Diagnostic Centre of FVS) in the time period 1991-2011.

The laboratory examination targeted at detection of presence of the rabies virus for all species of animal cadavers and its typing (in case the presence of the virus is confirmed), the detection of tetracycline (the biological marker) and the immunity level (presence of antibodies) have been performed at BIOR. The quality checking of the oral vaccine before the vaccination campaign (a stage of vaccination over the period of which the oral vaccination of animals is carried out) has also been performed at BIOR. To summarise the investigations performed by BIOR in a form accessible to further analysis, we developed an electronic data base over the period of doctoral studies where we entered detailed information on each animal tested and results of all the laboratory tests thereof from the testing reports.

To perform the typing of the rabies viruses isolated in Latvia since 2005, with an aim of separating the field virus from the oral vaccination virus strains, the rabies virus isolates have been sent from BIOR to the European Union Rabies Reference Laboratory ANSES, Nancy (France).

The epidemiological data and the cost effectiveness analysis, as well as development of maps on geographical localization of rabies cases were performed in collaboration with Friedrich Loeffler Institute of Epidemiology (Federal Research Institute of Animal Health) in Germany serving also as a Rabies Reference Laboratory under World Organization for Animal Health (OIE) and Rabies Surveillance and Research Centre of World Health Organization (WHO) as well as the German National Reference Laboratory for rabies.

Rabies control program by use of oral vaccination of wild animals

The oral vaccination of wild animals (ORV) as part of the rabies control program was first started in Latvia in 1991. From 1991 to 2003, oral vaccines in certain amounts were manually placed at foxholes and checked 5 days after placement to find how many baits have been consumed. The locations of the vaccine placement were fixed on a map. Since 2005, aircrafts were started to be used for the distribution of baits, thus ensuring a uniform distribution of vaccine baits over the whole territory of Latvia.

To ensure distribution of vaccine also in locations where aircrafts cannot be used, inspectors of FVS carried out additional manual distribution of the vaccine baits in green areas of the cities, parks and near cemeteries where foxes are found. In collaboration with the State Border Guards, vaccination was carried out also in the borderland with Russian Federation and Belorussia (3 km wide area) where commercial flights are not allowed.

Since 1991, over the whole course of the period investigated, 29 ORV campaigns have been carried out in Latvia, which are widely varied among themselves. Therefore, to implement the analysis of ORV campaigns and compare epidemiological data, a number of distinctive parameters of an ORV campaign were formulated:

- Area covered by oral vaccination (location, size, proportional relation against the whole territory of Latvia);
- Number of the vaccination campaigns per year;
- Time of implementation of the vaccination campaigns;
- The vaccine baits used (strain and manufacturer);
- The manner of distribution (manual or aerial);
- The number of the distributed vaccine baits;
- Density of the vaccine baits distributed (number of the vaccine baits per square kilometre).

To define separate ORV strategies, the following points were taken into account additional to parameters characterising ORV campaigns:

- Rabies surveillance system;
- Planning of the ORV campaign, its coordination, management and the process control; officials in charge thereof;
- Storage conditions of the vaccine and the temperature regime control;
- Quality control of oral vaccine before its distribution.

Detection of the rabies virus

In order to detect the rabies virus in brain the standard method used is the immunofluorescence method (IFM). For confirmation of the IMF results, especially in cases when the suspected animal has attacked a human or another animal also other laboratory testing methods are used in parallel (virus isolation

from the cell culture or the polymerase chain reaction (PCR), or mice inoculation test or biological test).

Efficacy analysis of rabies oral vaccination campaigns

The only indicator of oral vaccination campaign efficacy up to 2004 was the rabies prevalence but since 2005, in Latvia, following the international recommendations 4-8 animals were examined hunted per 100 km² of the vaccinated territory. Within the evaluation of the rabies oral vaccination campaign, over the period of the present research study, 20 651 wild animals (foxes and raccoon dogs) were sent in for laboratory examination.

Since 2001, in order to detect the bait uptake level in target species (foxes and raccoon dogs), the method of luminiscence microscopy (LM) has been used. Tetracycline (TC), a biological marker is component of vaccine bait, settling out in the bone tissue of animal after swallowing of the vaccine and is detectable in laboratory examinations with LM (Johnston et al., 1987). The mandibula bones of the hunted foxes and raccoon dogs were used for the laboratory tests, from which in autopsy teeth and bone tissue: fangs (*dens caninus*) and the bone tissue part of the lower jaw.

Concerning the use of serological tests for detection of immunity level or sero-conversion in foxes and raccoon dogs for the purpose of the ORV efficacy analysis, in Latvia in 2005, two different tests were applied: fluorescent antibody virus neutralization test (FAVN (Cliquet et al., 1998)) and Enzyme-linked immunosorbent assay or ELISA (Servat et al., 2007) (Platelia™ Rabies II kit, Biorad, France). Two cut-off values were selected to represent the lowest threshold of the detectable quantitative level of antibodies: the antibody level higher or equal with 0.5 IU/ml and higher or equal with 0.125 IU/ml.

The results obtained for foxes and raccoon dogs, we compared by years, as well as analysed their impact on the prevalence of rabies and the results of oral vaccine consumption. We analysed separately the combinations of the results obtained with the above methods. We summarised the laboratory test results obtained, calculated the percentages of positive samples (%) and 95% (P=0.05) confidence intervals. We compared the efficacy indicators of each ORV strategy and C efficacy indicators among the species of animals and by years. The confidence level 95% ($p < 0.05$) was used to compare the obtained results.

Cost effectiveness analysis of different ORV strategies

For implementation of the cost effectiveness analysis we planned to summarise the direct costs of ORV campaigns (purchase and storage of the vaccine baits, distribution of baits (manual or aerial), costs of laboratory testing for monitoring the efficacy of ORV campaigns) over the whole research period.

In the course of work we wrapped up data from FVS on the costs of campaigns run in the period 2005-2011, however we could not access the financial data for the period 1991-2004.

For calculation of the cost effectiveness for the period 2005-2011, we used the ORV campaign cost-efficiency calculation model developed in Germany (Selhorst & Schluter, 1997).

$$f(x) = a \cdot \exp(-n \cdot x)$$

where:

- f(x) - Decrease of rabies cases in relation to cumulative annual costs;
- a - The foreseeable number of rabies cases per year if $x=0$;
- x - Cumulative costs per year;
- n - Rate of decay in rabies cases per unit money spent already.

In this model, n characterises the rate of rabies cases reduction in relation to monetary unit already spent. At the beginning it is calculated for every year of the period separately followed by calculation of the mean indicator characterizing the period analysed.

A graph is prepared illustrating the reduction of the rabies cases in relation to cumulative annual costs. The exponential function or the usual linear regression curve and the coefficient of determination are used for measuring of the closeness of relation between the reduction of rabies cases and cumulative costs.

To assess the cost effectiveness trend for the periods 1991-1997 and 1998-2004, in cases where financial data were not accessible, we found an alternative: by adapting the above Selhorst and Schluter (1997) model and replacing the cumulative costs by years in it with the cumulative territory of vaccination (sum of area (square kilometres) of the vaccinated territory by years). It was possible because more than 90% of the ORV campaign costs are made up of the vaccine purchase and distribution expenses (Selhorst & Schluter, 1997) and both these indicators are related with the size of vaccination area.

Drawing of maps

For illustration of the research results on every year of the period, maps of Latvia were prepared (n=21) locating each rabies case registered and differentiating rabies cases in domestic animals from rabies cases in wild animals. On the basis of data we had summarised within the framework of the present study, the maps were prepared in collaboration with Friedrich Loeffler Institute of Epidemiology (Germany) by use of software ArcGIS 9 (2003).

Statistical analysis

Statistical analysis of the research results was carried out by use of MS Excel 2007 (Arhipova, Bāliņa, 2006) and R software (R Development Core Team, 2011). The significance of differences in the numbers of rabies cases registered in Latvia by different strategies and years were compared by use of Fisher's test and correlation analysis.

For the efficiency of the laboratory testing results of the ORV campaigns against rabies (IFM, LM, FAVN and ELISA tests) 95% (P=0.05) confidence intervals were set, by use of the software tool's package accessible online in the Internet (<http://statpages.org/confint.html>).

RESULTS AND DISCUSSION

Strategies of rabies ORV applied over the research period (1991-2011)

The research period embraces a large time span (1991-2011) and ORV campaigns implemented therein have been largely varied (Table 1), therefore the analysis of the complete period gives a general overview not allowing to go into details. To perform a detailed analysis, we defined 3 different periods or strategies of the whole period:

- 1) ORV against rabies from 1991 to 1997 – strategy A;
- 2) ORV against rabies from 1998 to 2004 – strategy B;
- 3) ORV against rabies from 2005 to 2011 – strategy C.

Table 1

Description of rabies ORV strategies

Strategy	Vaccine used	Vaccine distribution	Evaluation of the efficiency of ORV campaigns
A 1991-1997	Injectable vaccine with adapted bait without bio-marker	Irregular, in small quantity, manual distribution in a few regions with highest rabies prevalence	Based on rabies prevalence. Other laboratory tests were not carried out due to the type of vaccine
B 1998-2004	Manufactured oral vaccine with bait containing biomarker (tetracycline)	Regular, insufficient number of vaccine baits distributed manually in several regions	Limited (evaluation of rabies prevalence and bait uptake). Serological tests were not available at that time
C 2005-2011	Manufactured oral vaccine with bait containing biomarker (tetracycline)	Regular, sufficient number of vaccine baits distributed manually in all regions	Comprehensive system, including rabies prevalence as well as bait uptake and herd immunity level detection in foxes and raccoon dogs

As the result of the test we established that over time period of 21 years (1991-2011), 29 ORV campaigns against rabies have been carried out in Latvia

during which altogether 19 053 243 oral vaccine baits were distributed. The total area of the vaccinated territory over the above period was 848 094 km², out of which 415 019 km² were vaccinated within the spring ORV campaign (n=12) but 433 075 km² of territory within the autumn campaign ORV (n=17). Over the whole period, four different oral vaccines were used. The average density of the vaccines distributed over the period was 11.47 ± 2.19 baits/km² (average number ± standard deviation). In four of the total 21 years, ORV campaigns in Latvia were not carried out, in five years, the activities were limited to just one ORV campaign per year.

Analysis of the rabies prevalence in Latvia over the research period (1991-2011)

In the given period on the whole 18 157 animals have been sent in for detection of the rabies virus which were suspected as rabies affected. Of all the tested samples, 5 897 samples (32.48%) were confirmed as positive. Over the research period, three cases rabies were found also in humans.

Of the laboratory confirmed rabies cases, 4 626 (78.45%) were registered in wild animals, but 1 271 – in domestic animals (21.55%) (Fig. 1).

The difference in the prevalence of rabies among the wild animals and the domestic animals should be deemed significant ($p < 0.001$). Similar research results have been obtained in Lithuania where the proportion of rabies cases found among wild animals was 68.30% (Mačiulskis et al., 2006) and Estonia – 80.80% (Niin et al., 2008) of the total number of rabies cases.

Analysing the number of rabies cases by species of animals, we found that the most cases have been registered for foxes and the raccoon dogs – 4 142 (70.24%), while considerably less cases were found for dogs and cats 1 027 (17.42%).

The results of our research demonstrate that 89.54% of all rabies cases in wild animals are related to foxes and raccoon dogs. In the previous research studies on the prevalence of rabies in Baltic States, similar results have been obtained (Vanaga et al., 2003, Zienius et al., 2002, 2003, 2004, Milius et al., 2004, Maciulskis et al., 2006, Niin et al., 2008, Singer et al., 2009), which outlines the Baltic State as a uniform region with very similar epidemiological indicators of rabies: the disease is more widespread among wild animals, its main reservoirs are foxes and the raccoon dogs. It should be noted that in Lithuania and Estonia diverse results have been obtained in respect of the main rabies reservoir, for since 2001, in Lithuania and since 2002, in Estonia the number of rabies cases in raccoon dogs has exceeded the number of the rabies cases found in foxes (Vanaga et al., 2003; Westerling et al., 2004; Maciulskis et al., 2006; Niin et al., 2008; Laine et al., 2008, Singer et al., 2009; Smreczak et al., 2009; Zienius et al., 2011). This disparity is difficult to explain moreover that Latvia geographically is situated between Lithuania and Estonia.

Impact of different ORV strategies on the prevalence of rabies in Latvia over the research period (1991-2011)

In comparison with 1991 which marks the beginning of the start of the research period, the number of rabies cases, thanks to application of different ORV strategies, had reduced from 183 cases to just 1 case in 2011. However looking at the whole period, different prevalence trends were observed, including the increase of rabies prevalence to its highest peak in the history of Latvia - 963 cases in 2003. Taking account of this fact, the impact of each ORV strategy was analysed separately.

To evaluate the impact of the ORV strategies A, B and C on rabies prevalence in Latvia, we carried out the analysis of potential impact of the most important intrinsic indicators of these strategies and their comparison.

The impact of the number of vaccine baits distributed within the implementation of ORV strategies A, B and C on the rabies prevalence in Latvia is reflected in Fig. 3.

It should be emphasized that over the whole research period, irrespective of the rabies control strategy applied, the diseased foxes to racoon dogs ratio does not change which demonstrates that foxes and racoon dogs are the main species of rabies virus reservoir in Latvia.

The ORV strategy A against rabies was commenced in 1991 and over the 4 vaccination campaigns implemented, altogether 27 943 vaccine baits were distributed. Over this time, chicken heads and fish were used as baits where the vaccine of Russian production was injected before distribution. Over the strategy A implementation period, the vaccine baits were distributed manually and irregularly (just in 4 of the 7 years). From Figure 3 it is evident that in the implementation period of the strategy A, the number of the rabies cases has not been significantly reduced ($p > 0.05$) in comparison with the number of cases registered in 1991 and 1997.

The rabies control ORV strategy B was started in 1998 and over its 11 vaccination campaigns, altogether 1 106 100 commercially produced vaccines containing two different virus strains (SAD P5/88 and SAD Bern) were distributed. However also within this strategy the baits were distributed manually. Despite the considerably larger number of the distributed vaccine baits within strategy B in comparison with the strategy A ($p < 0.05$), the number of the rabies cases significantly ($p < 0.05$) increased reaching 963 cases in 2003 (see Fig.3).

The rabies ORV strategy C was started in 2005, and within its 14 vaccination campaigns performed altogether 17 919 200 commercially produced oral vaccine baits of two different virus strains (SAD B19 and SAD Bern) were distributed. Implementation of the strategy C was marked with the use of aircrafts for distribution of vaccines for the first time. In comparison with the strategy B, the amount of the vaccine baits distributed over the

implementation of strategy C was considerably higher ($p < 0.001$), which brought about a swift reduction of rabies cases in Latvia from 421 cases in 2005 to just one case in 2011.

Analysing the impact of density of the vaccines distributed on the rabies prevalence, we found that the density of the vaccine baits distributed within the strategy A was only 4 baits/km², while within the strategy B: 9.7 baits/km², which is considerably less than recommended (18-30 baits/km²). Consequently the density of the vaccine baits distributed within strategies A and B, has not reduced the rabies prevalence in Latvia. In respect of the average density of vaccine baits distributed over strategy C - 24.18 baits/km², we ascertained a positive impact on the rabies prevalence in Latvia as the result of which it was reduced from 421 cases in 2005 to just one case in 2011.

Comparing the rabies prevalence over periods of different ORV strategies, we found a significant difference between strategies A and B ($p < 0.05$) and strategies B and C ($p < 0.05$). At the same time, significant rabies prevalence differences between strategies A and C were not found ($p > 0.05$).

The analysis of efficiency parameters of rabies ORV strategies (vaccine bait uptake and the immunity level) for foxes and raccoon dogs (1991-2011)

Over the implementation of the ORV strategy A, the summing up of the uptake level of the vaccine baits by foxes and the raccoon dogs (animals of the target species) was not possible for at this stage, the vaccine did not contain the biological marker tetracycline (TC) yet. Checking of the immunity level for animals over implementation of the strategy A was not possible, for at that time in Latvia the serological methods for detection of the virus-neutralising antibodies were not available. Having that in mind, it is clear that both the proportion of animals having consumed the baits and the immunity level acquired during implementation of the strategy A is unknown.

The vaccine uptake rate results achieved within the Strategies B and C are presented in Fig. 4.

It is described in scientific literature that detection of tetracycline as a biological marker provides information on the potential shortcomings or deficiencies in ORV campaigns against rabies (The oral vaccination..., 2002). If at least 70% of the target population have consumed the vaccine, it should be sufficient to interrupt the rabies transmission cycle for foxes (WHO Expert Consultation on rabies..., 2004, Brochier et al., 1988, Masson et al., 1999), however, there is a proof that even by ensuring vaccination of a smaller proportion of the population, it is possible to control rabies (Thulke and Eisinger, 2008).

Over the implementation of ORV strategy B, the number of animals to be tested was determined within the limits of the accessible funding rather than

according to WHO recommendations. Regarding that tetracycline is retained in the bone tissue of animals for the whole lifetime after uptake of the vaccine and the fact that the first laboratory tests for tetracycline were performed only when ORV campaigns had been run already for a few years, it is possible that the results obtained by us have been influenced also by the previous ORV campaigns.

Over the course of the strategy C, altogether 19 554 wild animals were tested for the uptake of vaccine, including 13 972 foxes and 5 572 racoon dogs. In the course of testing, positive results were obtained in respect of 10 933 foxes (78.25%) and 3 866 racoon dogs (69.38%). For foxes the positive results of tetracycline over the period 2005 – 2011, varied within the limits of 56.30-88,72% , for racoon dogs: within the limits of 47.16-83.26%. In all years when strategy C was implemented, the vaccine uptake results for foxes were higher than for the racoon dogs, however, statistically significant differences between both species were not found ($p>0.05$). The best vaccine uptake results in Latvia were reached in 2010: 88.22% for foxes and 83.26% for the racoon dogs, furthermore for the racoon dogs this is the highest uptake indication over the whole research period. It is very likely that these results obtained by us are related to vaccine Fuchsoral® (Impstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Germany) which contains virus strain SAD B19 and were in use since 2008 for three successive years alongside with introduction of the vaccine distribution equipment SURVIS which allowed to better target the exact location of the vaccine placement registering each bait as a point on the map. It gave the opportunity to identify areas where vaccines due to some failure were not placed and thus provided for repeated distribution, covering the neglected areas. Another reason for comparing the results of the vaccine uptake with those of other years of ORV strategy C might be the field instability of the vaccine bait Lysvulpen® (Bioveta, Czeck Republic) containing SAD Bern virus strain in the research study carried out in Lithuania (Mačiulskis et al. 2008).

In their research in Estonia, Cliquet et al. (2012) describe that the tetracycline level found in 2008 and in 2009, was 93% and 91% for foxes and 88% and 86% for the racoon dogs accordingly. The results of research conducted in Lithuania demonstrate that after the ORV campaign where the vaccine containing SAD Bern virus strain was used, tetracycline was found in 79.63% of the tested foxes and in 58.35% of the racoon dogs tested in 2009 (European Commission, 2009). Comparing the results obtained in the three Baltic States, we see that in Estonia where a vaccine containing virus strain SAG2 was used, the bait uptake results are considerably better than results, both obtained in our research and in Lithuania where other vaccines were used. In a way, it can be explained with the composition and quality of the bait containing SAG2 virus strain vaccine providing for high resistance to the field conditions. In his research study, Mačiulskis et al. (2008) has described the instability of the bait containing SAD Bern virus strain vaccine outdoors (under

sunshine and rain), as well as the reduction of the virus titre within the vaccine. It should be emphasized that vaccine containing the strain SAD Bern has been widely used in Latvia which in a way explains the research results obtained.

The results of our research reveal that reduction of the rabies cases started in 2006 when 85.83% of the foxes and 77.45% of the raccoon dogs tested afterwards had consumed the oral vaccine (Fig.5).

In accordance with instructions of use of different commercial oral vaccines, the immunity for wild animals after uptake of vaccine lasts for about 12 months therefore vaccination should be repeated on regular basis, initially establishing the existing immunity level for the target animals.

For detection of the immunity level over the course of the ORV strategy C, 19 036 animals were tested with ELISA test – 13 613 foxes and 5 423 raccoon dogs. Of the animals tested the antibody level for 3 780 (19.86%) foxes and 1 026 (18.92%) raccoon dogs the blood antibody level exceeded 0.5 IU/ml. A lower immunity level (antibody level exceeds 0.125 IU/ml) from 12 563 foxes tested, was established for 6 890 (54.83%) animals and of the raccoon dogs tested, for 2 756 (54.62%) animals.

Since 2006, the immunity level both for foxes and the racoon dogs had increased, reaching its highest peak in 2010 when for foxes it was 71.99%, but for the racoon dogs - even 73.94%.

Comparing the immunity level results obtained using different cut-off values of antibodies, statistically significant differences ($p > 0.001$) were found both among foxes and the raccoon dogs.

Analysing the vaccine uptake results for foxes, it is evident from Figure 6. that the rabies prevalence reduces if at least 85.83% of the foxes examined have received the oral vaccine and continues to reduce even with lower uptake rates. Comparing different immunity levels on their turn we found that rabies prevalence starts to reduce if at least 46.57% of foxes have received low immunity level (>0.125 IU/ml) or at least 8.22% of foxes have acquired a high immunity level (>0.5 IU/ml).

Comparing different immunity levels and the vaccine uptake rates for the racoon dogs, it is shown in Figure 7 that the rabies prevalence starts to reduce if at least 77.45% of the racoon dogs tested have received the oral vaccine and it continues to reduce even with lower rates. Analysing different immunity levels in their turn, we established that rabies prevalence starts to reduce if at least 47.19% of the racoon dogs have acquired a low immunity level (>0.125 IU/ml) or at least 10.53% of the tested racoon dogs have acquired high immunity level (>0.5 IU/ml) (Figure 7).

Analysing the ELISA test results we found that the immunity level (>0.5 IU/ml) both for foxes and the raccoon dogs over the period of the strategy C, has grown considerably, reaching its highest peak in 2011: 35.12% for foxes and 36,17% for the racoon dogs respectively. The lowest level of the blood was established for foxes in 2006 (8.22%) and for the racoon dogs in 2007 (8.27%) (Fig. 6 and 7).

Our research results prove that over the whole period of strategy C, the vaccine uptake rates both for foxes and the raccoon dogs are significantly higher ($p < 0.05$) than the high immunity level (> 0.5 IU/ml) results (Fig. 6. and 7).

According to our research, the immunity results fixed for foxes and the raccoon dogs in 2005-2011 (ELISA, 0.5 IU/ml) varied within the limits 8.22% - 35.12% for foxes and 8.27% - 36.17% for the raccoon dogs. We found the lowest immunity level results in 2006 and 2007 when Lysvulpen®, a vaccine containing SAD Bern virus strain (Bioveta, Czech Republic) had been used – for foxes it was 8.22% and 10.27%, for the raccoon dogs - 10,53% and 8.27% respectively.

The results of our study are comparable with findings obtained in research carried out in other countries. In Estonia, after large scale ORV campaigns in 2005 – 2006, making use of SAG2 (RABIGEN®, Virbac Laboratories, France) vaccine, the immunity was established with ELISA assay (> 0.5 IU/ml) for 65% of the tested raccoon dogs and 64% of the tested foxes (Niin et al., 2008). In Lithuania, in time period between 2006 and 2010, the immunity was found for 46.8% of the raccoon dogs tested (Zienius et al., 2011), while for foxes in 2009 it was 49.85% (European Commission, 2009). Comparing the immunity level results acquired making use of the antibody levels 0.125 and 0.5 IU/ml, both for foxes and for the raccoon dogs, we found statistically significant differences ($p > 0.001$). ELISA test results for foxes demonstrate that the test can detect the antibody level which is about 0.2 IU/ml, but to exclude the false positive results, the antibody detection cut-off value 0.5 IU/ml (Cliquet et al., 2007) was set for dogs, cats and foxes, however it is not clear which is the lowest antibody level capable of protecting the animals from rabies infection. Regarding the results of our study especially the swift reduction of rabies when the ORV strategy C was implemented, we can assume that foxes and the raccoon dogs for which a lower level of antibodies than 0.2 IU/ml is detected, could nevertheless be protected from the disease.

Our research results demonstrate increase of two indicators within the time period 2006 – 2011: the number of animals with positive tests for presence of antibodies against the rabies virus and number of animals with a high immunity threshold (0.5 IU/ml). In respect of foxes, from 2008 to 2010, we observed a significant ($p < 0.05$) increase both, in the vaccine uptake rate (from 70.24% to 88.22%), and low level (> 0.125 IU/ml) immunity results (from 47.3% to 71.99%), as well as in high level (> 0.5 IU/ml) immunity results (from 13.06% to 33.87). Furthermore, over this period we established also a closer correlation between the vaccine uptake rates and the low level (0.125 IU/ml) immunity results ($r = 0.97$) and between vaccine uptake rates and high level (> 0.5 IU/ml) immunity results ($r = 0.99$). On the basis of the above data we can conclude that over the time period from 2008 to 2010, ORV campaigns have been the most effective, which is underpinned also by the reduction of rabies cases from 110 to 16 accordingly. It is very likely that the good results were actually due to the change of vaccine for after two years of using vaccine Lysvulpen® containing virus strain SAD Bern (Bioveta, Czech Republic) since

autumn 2008, by application of the vaccine Fuchsoral® containing virus strain SAD B19 (Impstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Germany). Possibly a major role in achievement of good results was played by application of the automatic bait distribution equipment SURVIS which providing registration of each bait as a point on the map allows for better management of the distribution process. Thus places which have remained uncovered by baits due to technical errors are consequently visible and can be filled in by repeated distribution of baits. Another reason for the commendable results could be the changes in storage practice of the vaccine, because since 2008 the vaccines were delivered straight to the airport and stored there in a portable freezer over the whole ORV period, ensuring an unchangeable regime of temperature.

To analyse the potential impact of ORV efficacy results on the geographical localisation of the disease and formation of the disease clusters in Kurzeme region (2007-2010), we compared the ORV efficacy results in Kurzeme region with overall results over the whole country. As the result of analysis we did not find any significant difference in vaccine uptake results either for foxes or the raccoon dogs ($p > 0.05$). Likewise we did not find any significant differences between both species in the high level immunity results ($p > 0.05$). However comparing the lower level immunity results (> 0.125 IU/ml) for foxes, we established significantly lower ($p < 0.05$) results in Kurzeme, while for the raccoon dogs this difference was not so significant. Possibly, the delayed and uncompleted due to prolonged procurement procedure ORV campaign in Kurzeme region in 2008 could be responsible for the low immunity results found for foxes. Another reason could be the relatively high proportion of forests and the bush lands in Kurzeme, as well as presumably the larger fox population, albeit this hypothesis could be extremely difficult to prove due to lack of precise data in Latvia on population numbers of different wild animals in different regions. The third reason could be failure to observe the temperature regime over the vaccine storage period.

Detection of the rabies virus within the framework of ORV strategy C efficacy evaluation for foxes and raccoon dogs

Comparing the number of rabies cases diagnosed within the framework of ORV strategy C efficacy evaluation with the number of rabies cases confirmed within passive surveillance of rabies (suspicious cases), we found that the number of rabies cases diagnosed within the ORV strategy C evaluation is significantly lower ($p < 0.05$) (Table 2).

For efficacy evaluation of ORV strategies, several international guidelines (The oral vaccination..., 2002, Cliquet et al., 2010) recommend supplementary testing of foxes and raccoon dogs from ORV territories for the presence of the rabies virus also by using the IFM method.

To analyse the reasons of morbidity for the sick animals identified within the ORV strategy C efficacy evaluation, we summed up the luminescent microscopy and ELISA test results for these animals.

Within our research, during the strategy C, for identification of the rabies virus from the whole territory of Latvia, 12 402 foxes were tested of which 54 (0.43%) were positive for rabies virus and 4 633 raccoon dogs were tested of which 30 (0.64%) were positive for the rabies virus. It should be emphasized that for none of the sick animals identified, the vaccine origin virus was found which proves the safety of vaccines used for the strategy C and do not cause infection. The proportion of the diseased animals (0.49%) is very small in comparison with rabies cases found within the passive surveillance activities (confirming clinical suspicion) from 2005 to 2011 (20.83%). From the results obtained we can conclude that it is neither rational nor cost-efficient to test the foxes and raccoon dogs hunted for evaluation of the ORV efficacy in examination for the virus identification.

Cost efficacy analysis for oral vaccination strategies applied in Latvia (1991-2011)

As within our data collection and summarisation process it was not possible to obtain data on costs of ORV strategies A and B, we started the cost analysis by looking at strategy C the costs of which are reflected in Table 3.

Analysing data of the strategy C costs (total costs - 6 891 251.89 LVL), we found that 90.37% of the total costs are taken up by the vaccine purchase and distribution. A similar research study has been performed in Estonia where for the implementation of rabies ORV program in the time period 2005-2010 11 985 192.70 EUR have been spent of which 91.3% were associated with vaccine purchase and distribution costs (Cliquet et al., 2012). At the same time, in France the research carried out from 1988 to 1993 showed that the vaccine purchase and distribution costs made up 92.9% of the total amount of money spent for the implementation of the ORV campaign (Aubert, 1999).

Regarding that in our case 90.37% of the total ORV strategy C costs were made up by the vaccine purchase and distribution costs and both are directly dependent upon the size of area where the ORV is carried out, we replaced for the sake of cost-efficiency calculation the cumulative costs (LVL) with the cumulative area of the territory vaccinated (km²).

Comparing the determination factors obtained ($R^2=0.8718$ and $R^2=0.8535$ accordingly), we found no significant differences between them, consequently the area data of cumulative vaccinated territory (km²) may be used as an estimation of costs and we used them for the cost efficacy calculation of strategies A and B.

The average implementation costs of the ORV strategy C per 1 km² of the vaccinated territory were 18.90 LVL or 26.90 EUR (the currency exchange rate used: 1 EUR = 0.7028 LVL) per year.

There are very few scientific articles published reflecting economic aspects of the rabies control programs. The results of the study carried out in France from 1988 to 1993 show that the ORV implementation campaign costs were 56 USD a year per sq km (Aubert, 1999) which are significantly higher in comparison with the results of our research ($p < 0.05$).

Another study indicates that the annual costs (for purchase and distribution of vaccine and the ORV efficacy evaluation), with an aim of setting up a buffer zone for protection of the part of European Union which is free from rabies, depending upon a state, could come to 37-69 EUR/km² (Freuling et al., 2008). The costs are notably higher than those calculated within our research study (26.90 EUR/km²). Regarding the average annual costs of ORV against rabies per 1 sq km calculated by us, it follows that maintenance of a 50 km buffer zone in the territory of Latvia located along the border with the Russian Federation and Belorussia (total length of the border – 417 km), the total annual costs would come to app. 400 000 LVL, furthermore it should be noted that European Commission co-finances 75% of these costs.

The results of our research show that analysing the whole research period (1991-2011), the cost efficacy is just 61% ($R^2=0.61$). The cost efficacy for ORV strategies A and B was low ($R^2=0.012$ and $R^2= -0.60$ accordingly), as significant reduction of rabies prevalence was not observed, while the highest efficacy was established for ORV strategy C ($R^2=0.87$). The impact of the costs of ORV strategy C to rabies prevalence (cost efficiency) is reflected in Fig. 8.

Analysing the research period as the whole, we found that different rabies control strategies, had produced highly varied results. The efficiency of rabies control measures largely depends upon the available funding. The implementation costs of rabies ORV campaigns are high, therefore countries look for alternatives: less costly strategies, however the efficacy of the latter has not justified itself up to now which is clearly proved also by the results of our research. The national rabies surveillance program should be based on international recommendations, it must be long-term (at least 6 years) and of high quality so as to ensure a complete control along all links of the implementation chain. The funding of such a program should be long-term to avoid interruption thus risking prolongation of the overall rabies control period in country.

The success of the rabies control strategy is directly influenced also by the existing government procurement legislation, which in the case of Latvia demands purchase of the cheapest vaccine corresponding to technical specifications. It is common knowledge that the cheapest goods are not always the best ones. This is clearly demonstrated through comparing the efficiency of the ORV campaign in Latvia with that of Estonia, where the oral vaccine used is of the highest quality as the result of which Estonia was successful to eliminate rabies in 2-3 years. Regarding the above facts it should be underlined that use of a cheaper vaccine which meets only the minimum requirements may take much longer time and funding than application of a high quality vaccine.

Those financial assumptions must be taken on board when implementation of rabies control program is planned.

CONCLUSIONS

1. From the rabies cases registered over the research period (1991-2011) a significantly higher ($p < 0.001$) morbidity rate was found for the wild animals - 78.45% of all cases, while for domestic animals it was just 21.55%. This percentage relation between morbidity of the wild and domestic animals was not significantly changed by different ORV strategies applied which is an indicator of endemic spread of rabies in Latvia mainly among the wild animals and a role of reservoir species: foxes and raccoon dogs in rabies epidemiology.
2. From 1991 to 2004, the efficacy evaluation of vaccination was implemented only by one of the three recommended indicators: the prevalence of rabies which in the period 1991-1997 did not significantly change but within 1998-2004 even increased. The results of tests performed in 2005-2011 (bait uptake and the immunity level) are indicative of efficiency which promoted a radical improvement of the rabies epidemiological situation in Latvia.
3. The cost efficacy analysis of the oral vaccination strategies against rabies over the research period (1991-2011) shows that resources invested in the period 1991-2004 have not brought any payback, consequently this period should be deemed financially ineffective.
4. Despite the high implementation costs, strategy C (2005-2011) comprising a large-scale ORV, in a country where rabies is an endemic, should be deemed effective, because the prevalence of rabies significantly ($p < 0.05$) decreased.
5. In the period of strategy C (2005-2011) even a low immunity level (>0.125 IU/ml) instead of the recommended >0.5 IU/ml) protected foxes and raccoon dogs from infection and promoted a swift reduction of rabies prevalence.
6. In the period of the strategy C (2005-2011), the immunity level (>0.5 IU/ml) for foxes and the raccoon dogs was higher when vaccine containing the rabies virus strain SAD B19 was used.
7. In the period of ORV strategy C (2005-2011) testing the hunted foxes and raccoon dogs for the purpose of the efficiency control of the campaign, the presence of rabies was established only for 0.49% of all tested animals.

PROPOSALS

for further strategy of rabies control and prevention in line with changes of the rabies prevalence in Latvia

In 2011, at the end of the research period, only one rabies case was registered in Latvia. In accordance with the international recommendations, (The oral vaccination..., 2002) oral vaccination should be continued for at least two years after confirmation of the last rabies case. However at the end of the control process, very few rabies cases get registered in country, therefore the localisation of these cases are of an extreme importance because the choice of the most appropriate control measures depends upon it.

At this point when Estonia and Lithuania, both our neighbouring states in the Baltic Region are in the process of controlling rabies through oral vaccination, the highest possibility to register new cases are in the Eastern part of Latvia – within the borderland area with Russian Federation and Belorussia because in these countries rabies is a wide spread disease and control measures adequate for the epidemiological situation are not carried out. Therefore, for maximum accurate evaluation of each new case of rabies within borderland, a regular and good cooperation with the neighbouring states is of high importance.

If new cases of the disease in the few coming years are registered only in the Eastern part of Latvia, the ORV campaigns for the wild animals could perhaps also be limited to this part of Latvia setting up a 50 km wide buffer zone along the total length of Border with the Russian Federation and Belorussia (463 km). The above strategy would promote considerable reduction of the costs of ORV against rabies at the same time ensuring the same efficiency level as strategy C. The maintenance of such buffer zone in the territory of Latvia would be required up to the point when both Russian Federation and Belorussia implement purposeful long-term rabies control strategies resulting in notable improvement of the epidemiological situation in its turn reducing the possibility for rabies re-introduction in Latvia with wild animals.

In point of time, when no new rabies cases would have been reregistered in Latvia for at least two successive years and the possibility of animals sick with rabies entering the territory of Latvia from Russian Federation and Belorussia would become negligent, Latvia will be able to apply for the rabies-free country status. After acquiring this status, the ORV against rabies in Latvia will not be mandatory however, the effective passive surveillance will still have to be carried out – laboratory testing of clinically sick, suspicious animals and animals showing symptoms similar to those of rabies. The preventive vaccination of dogs, cats and domestic ferrets must still be obligatory however its frequency should be reduced from once a year stipulated by the current legislation (Article 59 (14) of the Law on Veterinary Medicine) to frequency indicated by particular producer.

At the same time, if in Latvia as a rabies-free country a case of rabies in an animal would still be detected the follow-up action should be dependent whether the diseased animal is a domestic or a wild animal.

In case, a domestic animal is confirmed sick with rabies, the recommended control measures (in a rabies-free country) are as follows:

- Detailed epidemiological investigation with an aim of clarifying the potential time, place and causes of infection (possible travelling with an animal outside Latvia, coming into contact with a wild animal etc.);
- Introduction of the further measures depends upon the results of epidemiological investigation; upon finding that the domestic animal has been in contact with the wild animal in Latvia, the rabies control measures will be the same as upon finding a rabies case in a wild animal.

In case of rabies in a wild animal the recommended rabies control measures (in a rabies-free country):

- Intensified surveillance of wild animals (foxes and racoon dogs): shipment of the dead animals found for laboratory testing for identification of the rabies virus, as well as, if required, organization of hunting and shipment of the foxes and racoon dogs hunted for laboratory testing with an aim of assessing the epidemiological situation of rabies in the particular area;
- Starting of an emergency ORV campaign without delay (except in winter with the air temperature is below 0°C) in 25-50 km radius around the spot where the disease in a wild animal was found (affected point);
- The size of territory for ORV must be outlined by identifying natural barriers: lakes and rivers, abundant in Latvia, however the size of the area should not be smaller than 2 000 km²; The distribution density of baits over the emergency ORV campaign depends upon the population size of wild animals within the respective territory but it should not be smaller than 25 baits per sq.km;
- In case within 30 days a repeated rabies case or several cases are registered in ORV territory, a repeated emergency ORV campaign should be carried out in this territory;
- The efficiency evaluation of the emergency ORV campaign by testing the foxes and racoon dogs hunted for tetracycline presence in their bone tissue thus measuring their immunity level is not necessary.

Speaking of the measures against rabies for agricultural animals, we recommend to ensure the preventive vaccination against rabies (pursuant to its instruction of use) for animals which are grazed on borderland with the Russian Federation and Belorussia (30-40 km area). Regarding the high prevalence of rabies among wild animals in Russian Federation and Belorussia there is a risk that the infected animals can cross the border and endanger agricultural animals in Latvia.

SCIENTIFIC PUBLICATIONS

1. Oļševskis E., Lamberga K. un Liepiņš E. (2012) Cost efficiency of rabies oral vaccination strategies implemented in Latvia from 1991 to 2011. *Proceedings of International Scientific Conference „Animal. Health. Food Hygiene”*, Jelgava, 2012, pp.108-113.
2. Oļševskis E., Liepiņš E., Jēgers E. and Lamberga K. (2012) Evaluation of various rabies elimination strategies in Latvia. *Compendium of the OIE Global Conference on Rabies Control*, Eds.: A.R. Fooks and T. Müller, World Organization for Animal Health, Paris, France, pp.215-221.
3. Oļševskis E., Liepiņš E. and Lamberga K. (2011) Evaluation of different rabies eradication strategies applied in Latvia from 1991 to 2010. *Abstract book: OIE Global Conference on Rabies Control held in Seoul, Republic of Korea*, September 7-9, 2011, p.57.
4. Oļševskis E., Liepiņš E., Lamberga K., and Rodze I. (2011) Efficacy of the first large-scale rabies oral vaccination campaigns in Latvia during 2005. *Proceedings of International Scientific Conference „Research for Rural development 2011”*, Vol.1, 18-21 May 2011, Jelgava, LLU, p.166-172.
5. Oļševskis E., Liepiņš E. (2010) Rabies oral vaccination in Latvia – past, present and future. *Proceedings of International Scientific Conference „Animal. Health. Food Hygiene”*, Jelgava, 2010, p. 169.