

## ГЛАВА 1.1.2.

### ОТБОР, ПРЕДСТАВЛЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

#### ВВЕДЕНИЕ

*Лабораторные исследования заболеваний животных в значительной степени зависят от качества и пригодности образцов, отобранных для анализа. В этой главе излагаются общие стандарты, связанные с отбором, представлением и хранением образцов. В главах данного Руководства по наземным животным, посвященных конкретным болезням, предоставляется конкретная информация по соответствующим образцам, необходимым для проведения тестирования на конкретные патогены или токсины. Отбор проб может осуществляться от отдельных животных, популяций животных или из окружающей среды для различных целей, таких как диагностика болезней, надзор за болезнями, санитарная сертификация и мониторинг лечения и/или эффективности вакцинации. Для обеспечения научно и статистически достоверных результатов, отобранные образцы должны соответствовать намеченной цели, и их качество, объем и количество должны отвечать требованиям планируемых тестирований. Кроме того, животные и ткани, из которых отбирают пробы, должны быть репрезентативными для исследуемого заболевания.*

*Образцы следует отбирать с использованием надлежащих мер биобезопасности и мер по сдерживанию распространения болезни в целях предотвращения контаминации окружающей среды, специалистов по работе с животными и людей, осуществляющих отбор проб, а также в целях предотвращения перекрестной контаминации самих образцов. Также следует принимать дополнительные меры во избежание неоправданного стресса или травм для животного и физической опасности для тех, кто работает с животным. Биологические материалы должны быть упакованы для обеспечения тщательной защиты от протечек, и затем маркированы при строгом соблюдении соответствующих норм, регулирующих их транспортировку, как указано в Главе 1.1.3.*

#### А. ОТБОР ОБРАЗЦОВ

##### 1. Общие подходы

Особое внимание следует уделять отбору, биологической защите и хранению образцов, включая меры биобезопасности, которые должны действовать для предотвращения контаминации окружающей среды или воздействия потенциально инфекционных материалов на других животных и людей (см. Глава 1.1.4 *Биобезопасность и биозащита: Стандарт для управления биологическими рисками в ветеринарных лабораториях и вивариях*). Для получения информации о транспортировке образцов см. Главу 1.1.3 *Транспортировка образцов животного происхождения*.

Достоверность диагностического тестирования в большой мере зависит от того, является ли образец(-ы) подходящим, качественным и репрезентативным для исследуемого процесса заболевания. Прежде чем отбирать образцы, следует уделить внимание типу необходимого образца(-ов), включая цель тестирования и технологии тестирования, которые должны использоваться. Объем или количество образца должно быть достаточным для проведения первоначального тестирования, для проведения любых последующих подтверждающих тестирований, и для обеспечения достаточного количества остаточного образца, в справочных или архивных целях.

Цели тестирования должны соответствовать целям, для которых утверждены тесты, как указано в Главе 1.1.6 *Принципы и методы валидации диагностических тестов для инфекционных болезней*, а именно:

- i) Демонстрация свободы от инфекции в определенной популяции.
- ii) Подтверждение свободы от инфекции или наличия возбудителя инфекции у отдельных животных или в продуктах, полученных от них, в целях торговли/перемещения.
- iii) Искоренение болезни или устранение инфекции в определенных популяциях.
- iv) Подтверждающая диагностика подозрительных или клинических случаев.
- v) Оценка распространенности инфекции или воздействия возбудителя инфекции для обеспечения проведения анализа риска.
- vi) Определение иммунного статуса у отдельных животных или популяций (после вакцинации).

До начала отбора образцов должны быть разработаны надлежащие с точки зрения эпидемиологии планы отбора проб, как описано в Разделе В и Приложении 1.1.2.1. В них указывается количество животных или других единиц выборки, которые следует подвергать отбору проб.

Образцы должны отбираться на основании достоверных знаний в области эпидемиологии и патогенеза исследуемого заболевания, или синдрома заболевания, подлежащего диагностике. Это приведет к отбору проб тканей или жидкостей, в которых наиболее вероятно будет присутствовать возбудитель заболевания или признаки инфекции. Рассматриваемые факторы должны включать ткани, предрасположенные к поражению или поражаемый орган, длительность и очаг инфекции в каждом типе ткани и длительность и путь выделения в окружающую среду, или период времени, в рамках которого можно достоверно выявить признаки перенесенной инфекции, такие как гуморальный иммунный ответ, с использованием тестов. В связи с данными факторами также должны быть указаны метод(-ы) отбора проб, которые следует использовать. При многочисленных исследованиях заболевания, проведенных в стаде животных или домашних птиц целесообразно отбирать образцы от здоровой когорты для сравнительного эпидемиологического или базового тестирования (например, метод «случай-контроль» и когортный метод для диагностических исследований) и в целях валидации.

Если требуется химическая эвтаназия или анестезия для сдерживания животных, следует принимать во внимание влияние химического вещества на результат теста (например, токсикологическое исследование). Некоторые лабораторные испытания не предназначены

для работы со специфическими антикоагулянтами крови и консервантами тканей, такими как гепарин, формалин, сухой лед (подвергание испытательной пробы воздействию повышенным уровням CO<sub>2</sub>), или даже замораживание. Так как крайне важно отбирать образцы в асептических условиях, одинаковое внимание следует уделять предотвращению контаминации детергентами и средствами для антисептической обработки, которые используются для очищения места отбора проб у животного, так как данные вещества могут помешать проведению процедур лабораторного тестирования. На процедуры, требующие наличия культуры тканей патогенов, а также на многие молекулярные тесты, могут оказывать негативное влияние химические вещества или детергенты, обычно используемые при производстве или подготовке инструментов для отбора проб (например, химические вещества, используемые для производства некоторых типов тампонов и детергенты, используемые для очищения стеклянной тары).

Конкретную информацию по методологиям диагностических тестов и рекомендуемым образцам, консервантам и процедурам работы с образцами можно найти в главах, посвященных конкретным болезням *Руководства по наземным животным* или посредством прямых консультаций с лабораторией, которая осуществляет необходимое тестирование. Информацию по процедурам для отбора и представления образцов можно получить у большинства диагностических лабораторий, включая национальные и международные учреждения, где информация часто открыта для доступа на веб-странице конкретной лаборатории. На веб-странице МЭБ дана контактная информация по всем справочным лабораториям МЭБ (<http://oie.int/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

Важно не только отбирать наиболее подходящие для диагностики образцы, но также информировать лабораторию об эпидемиологии данной болезни, для того чтобы научные сотрудники лаборатории определили наиболее подходящие тесты или диагностическую панель тестов. Эпидемиологическая информация, которую следует предоставлять с образцами, указана в Разделе С данной главы.

При исследовании болезней неясной этиологии, следует отбирать многочисленные различные образцы, которые отображают различные стадии прогрессирования болезни у животного или в популяции животных (например, доклиническая, ранняя клиническая, активная клиническая, хроническая фаза и фаза выздоровления). Эпидемиологические принципы отбора проб особенно важны для диагностики болезней, связанных с популяцией, как происходит в ульях, стадах птиц и стадах животных. Эпидемиологические принципы, используемые для отбора проб, рассматриваются далее в Разделе В данной главы.

Образцы могут отбираться до или после наступления смерти. Конкретные принципы, связанные с различными типами образцов, указаны ниже.

## 2. Кровь

Образцы цельной крови могут отбираться для гематологии, клинической биохимии, токсикологии, непосредственного исследования на бактерии или паразитов, ПЦР-диагностики, иммунологического тестирования или для выращивания бактерий или вирусов. В зависимости от потребностей исследования образцы цельной крови, клеток крови и/или плазмы могут быть получены из цельной крови, отобранной в подходящие антикоагулянты. При выборе используемого антикоагулянта, сотрудник, осуществляющий отбор проб, должен быть осведомлен о лабораторных тестированиях, включая ПЦР-диагностику, клиническую биохимию и токсикологию, на которые может оказать отрицательное влияние присутствие специфических антикоагулянтов или консервантов. В главах данного *Руководства по наземным животным*, посвященных конкретным болезням дается руководство по отдельным тестам и требованиям к пробам. Для того чтобы антикоагулянты были эффективными, требуется тщательно смешать отобранную кровь с выбранным антикоагулянтом во время или сразу после ее отбора у животного.

Для получения сыворотки цельную кровь отбирают без использования антикоагулянтов и оставляют свернувшуюся кровь для спекания при температуре окружающей среды, не подвергая воздействию чрезвычайно высоких и низких температур, на период, который может длиться от нескольких часов до целой ночи. Чистую сыворотку можно слить или отобрать при помощи пипетки после физического удаления сгустка, желательно после легкого центрифугирования для отделения компонентов клеток из сыворотки. При отсутствии центрифуги отделить сгусток можно наклонив пробирку со свежесобранной кровью приблизительно на угол 45° пока сгусток не свернется, «очертив круг» вокруг сгустка стерильной палочкой или пипеткой для отделения сгустка от поверхности пробирки, и затем удалить сгусток пинцетом. Качество образца может негативно влиять на результаты серологического тестирования. Бактериальная контаминация и дебрис красных кровяных клеток в пробах сыворотки могут привести к ложноположительным реакциям в реакциях агглютинации. Гемолиз в образце сыворотки может оказывать негативное влияние на серологические испытания. Большую проблему представляет микробная контаминация и гемолиз, особенно при получении образцов крови и сыворотки от животных после смерти. Часто причинами гемолизированной сыворотки и плазмы являются: воздействие чрезмерных температур или задержка времени перед отделением сыворотки от красных кровяных клеток, отбор крови с использованием иглы слишком маленького калибра, или неудачная попытка снять иглу при переносе образца крови из шприца для сбора.

Цельную кровь следует отбирать в асептических условиях, обычно путем венепункции у живого животного. В зависимости от животного и ситуации отбора проб можно использовать яремные, хвостовые, плечевые, головные, грудные вены или полую вену. Были рассмотрены конкретные методы отбора проб у мелких лабораторных животных (Anon, 1993; Nem *et al.*, 1998). Следует соблюдать особую аккуратность при отборе и переносе проб крови во избежание повреждения красных кровяных клеток, что может привести к гемолизу. Кровь и сыворотку обычно транспортируют и хранят в охлажденном состоянии (или в замороженном, в случае сывороток) в ампулах, пробирках или флаконах из небьющегося стекла; однако для некоторых лабораторных исследований, которые

требуют наличия жизнеспособных мононуклеарных клеток периферической крови, кровь должна упаковываться, перевозиться и храниться таким образом, чтобы исключить воздействие на нее экстремальных температур. Для некоторых исследований аликвоты образцов могут быть высушены на куске необработанной или специальным образом обработанной промышленной фильтровальной бумаге, предназначенной для транспортировки и хранения стабилизированных образцов.

### **3. Фекалии**

Фекалии можно отбирать сразу после опорожнения кишечника или предпочтительно непосредственно из прямой кишки/клоаки для таких исследований как выращивание микроорганизмов, исследования на паразитов или анализ кала на скрытую кровь; или можно отбирать для культуральной и молекулярной диагностики из прямой кишки/клоаки с использованием ватных тампонов, тампонов из дакрона или марлевых тампонов, в зависимости от объема образца, необходимого для конкретной методологии тестирования. Образцы, отобранные при помощи тампонов, следует сохранить во влажном состоянии посредством помещения их в транспортную среду, рекомендуемую для использования в конкретном тесте; такая среда может варьироваться от стерильного раствора натрия хлорида до культуральной среды, содержащей противомикробные препараты или стабилизаторы. Образцы фекалий должны сохраняться в охлажденном состоянии (например, охлаждаться при 4С° или на льду) и тестироваться как можно быстрее после отбора для сведения к минимуму вредных воздействий на результаты теста, вызванных гибелью целевых микроорганизмов, избыточным ростом бактерий или вылуплением личинок паразитов из яиц. Двойное упаковывание образцов фекалий в контейнеры с завинчивающейся крышкой или герметичные контейнеры, которые затем помещаются в запечатанные полиэтиленовые пакеты, поможет избежать перекрестной контаминации образцов и связанных с ними упаковочных материалов. Фекалии, которые содержатся только в смотровых перчатках для ректальных исследований, полиэтиленовых пакетах или пробирках с резиновыми пробками являются неподходящими, так как в них часто происходит размножение бактерий, сопровождающееся газообразованием, что может привести к разрыву полиэтиленовых пакетов, смещению пробок, и к протечке образца.

### **4. Эпителий**

Эпителиальная ткань в форме биопсии или кожных соскобов; мазки со слизистой оболочки рта, из носа, из зева и поверхностей желудочно-кишечного тракта, а также ошипанные волосы или шерсть могут использоваться для непосредственных исследований или лабораторных тестов для идентификации наружных паразитов, таких как клещи и вши, грибковых, бактериальных или вирусных инфекций, аллергических реакций и неоплазий. Образцы должны отбираться в асептических условиях и сохраняться в соответствии с требованиями планируемого исследования(-ий). Глубокие кожные соскобы, полученные с использованием края лезвия скальпеля, пригодны для извлечения клещей. Кончики перьев были признаны подходящими для использования при выявлении вирусного антигена болезни Марека, и используются в качестве образца для молекулярного обнаружения дополнительных болезней птиц. Эпителиальные ткани, особенно ассоциированные с везикулярными поражениями, и отобранные в вирусную

транспортную среду, могут быть крайне важными для лабораторной диагностики конкретных вирусных инфекций, таких как ящур.

## **5. Отбор проб из глаза**

Отбор проб с поверхности глаза может быть осуществлен при помощи мазка или соскоба, при этом для тестирования следует обеспечить отбор клеток, а не слизисто-гнойных выделений или слезной жидкости. Образцы со слизистой оболочки глаза обычно отбирают таким образом: оттягивают веко и аккуратно берут мазок с поверхности глаза ватным тампоном, тампоном из дакрона или марлевым тампоном, предварительно смоченным стерильным физраствором или эквивалентным веществом. Данные мазки следует хранить во влажном состоянии, поместив их в физраствор или транспортную среду, специально рекомендованную для использования в осуществляемом тесте. Для определения прионов используется биопсия из третьего века овец в качестве ткани с большим содержанием лимфоидных клеток.

## **6. Отбор проб из половых путей**

В качестве образцов для исследований на заболевания репродуктивной системы можно использовать препуциальные и вагинальные смывы и мазки с шейки матки и уретры. Данные мазки следует хранить во влажном состоянии после отбора, путем помещения в рекомендуемый объем транспортной среды, как того требует лабораторный тест, как правило, это стерильный раствор натрия хлорида или требуемая культуральная среда. Образцы спермы обычно получают при использовании искусственной вагины или давления на пенис и искусственной стимуляции. Следует избегать контаминации образца антисептическими или моющими растворами, используемыми для подготовки животного/органа к отбору проб.

## **7. Выделения из носа, слюна и везикулярные жидкости**

Выделения можно отбирать непосредственно во флакон или пробирку, или отбирать с использованием тампонов. Везикулярные жидкости представляют собой высококонцентрированный источник патогенов для диагностического исследования, и их можно отбирать из невскрывшихся пузырьков при использовании стерильной иглы и шприца, и сразу переносить в надежно закупоренный флакон или пробирку. Для отбора клеточного материала и слизи из глотки сельскохозяйственных животных можно использовать специально разработанные инструменты для отбора проб, такие как гибкий зонд с контейнером для сбора мокроты. Хлопчатобумажные веревки, которые дают животным пожевать, были одобрены для использования при отборе образцов слюны у домашних свиней.

## **8. Молоко**

Молоко можно отбирать у отдельных животных или из сборного молока, отобранного от многих животных в стаде, смешанного в цистернах. Следует очистить сосок(-ки), используемые для отбора проб, и перед отбором образцов следует тщательно смывать любые дезинфицирующие средства. При отборе молока из отдельных сосков первую струйку следует вылить, и брать пробы только с последующих струек молока. Метод

консервирования проб до начала тестирования варьируется в зависимости от требований теста; в некоторых случаях будет важно избегать замораживания или добавления химических консервантов. Информацию по надлежащим процедурам работы с образцами и рекомендациям по консервированию образцов следует искать в главах данного Руководства, посвященных конкретным болезням, и/или посредством консультаций с испытательной лабораторией.

## **9. Ткани, отобранные при аутопсии**

Аутопсию должны осуществлять только квалифицированные ветеринары и патологоанатомы. Персонал, имеющий средне-специальное ветеринарное образование, может быть обучен ветеринарами для проведения патологоанатомических исследований для конкретных целей. Важно отметить, что целью аутопсии является не только отбор образцов, но также и проведение компетентных наблюдений в отношении патологии, связанной с заболеванием. Такие наблюдения являются важным дополнением к эпидемиологическим и клиническим наблюдениям при комплексном ветеринарном изучении случая заболевания или вспышки. Для ветеринарных учреждений важно сохранить квалифицированных ветеринаров-патологоанатомов для проведения патологоанатомических исследований в важных случаях. В случае если данными высококвалифицированными специалистами руководит ветеринарная лаборатория, используемые методы должны быть официально описаны в Руководстве по обеспечению качества лаборатории, и данная профессиональная квалификация должна быть указана в области аккредитации лаборатории. Подробные процедуры для проведения патологоанатомических исследований и отбора проб тканей описаны в большинстве учебников по патологоанатомическим исследованиям, а также доступны во многих размещенных в Интернете руководствах национальных лабораторий по проведению исследований. Образцы, имеющие большое значение для лабораторных исследований списочных болезней, включены в главы Руководства, посвященные каждой болезни.

Независимо от того, проводится ли аутопсия в специализированной лаборатории или в поле, следует соблюдать соответствующие меры биобезопасности и меры по сдерживанию распространения болезни для обеспечения безопасности специалистов по работе с животными и для получения неконтаминированных и пригодных для тестирования тканей, а также для защиты окружающей среды и других животных от возможного воздействия патогенов. В качестве обязательного требования специалист(-ы), осуществляющий отбор образцов, должен использовать индивидуальные средства защиты, которые защищают кожу и слизистые оболочки, и которые можно выбрасывать или дезинфицировать. Все оставшиеся ткани или части туши и жидкости должны быть изолированы и обработаны соответствующим дезинфицирующим средством или уничтожены с применением соответствующего метода, и ближайшая окружающая среда должна быть тщательно продезинфицирована.

В зависимости от предполагаемой болезни, состояния туши и имеющихся для аутопсии технических средств, посмертные образцы могут быть отобраны из одного или нескольких органов, и могут быть представлены в лабораторию либо в свежем виде (без консервантов), либо с консервантами для дальнейших лабораторных исследований. Процесс аутолиза туши может разрушить диагностически важные ткани и возбудителей

инфекции и таким образом, его следует учитывать перед отбором и представлением посмертных образцов.

Что касается свежих образцов, особое внимание следует уделять обращению с ними и хранению, чтобы избежать аутолиза и чрезмерного роста бактериальных и грибковых контаминантов. В идеале, свежесобранные образцы хранят при постоянной пониженной температуре с момента отбора до обработки для тестирования. Если такая холодовая цепь не может быть обеспечена, свежие образцы для некоторых процедур тестирования могут быть отобраны в жидкости, такие как этиленгликоль, который тормозит рост вторичных организмов. Если данные стратегии соответствуют последующим методам тестирования, данный вариант указывается в соответствующих главах *Руководства по наземным животным*, посвященных каждому заболеванию.

Консервирование образцов, отобранных после смерти, наиболее часто достигается посредством отбора в раствор формалина. Если такие химические фиксаторы поставляются патологоанатомам лабораториями или компетентными органами, следует обеспечить их достаточную подготовку в области аспектов здоровья и безопасности при использовании данных химических веществ, и обучение в области соблюдения норм транспортировки данных химических веществ.

## **10. Окружающая среда и корм**

Взятие проб из окружающей среды может включать помет, подстилку, воду из кормушек и поилок или корм, на который попала моча, фекалии и/или слюна зараженных животных, или пробы берутся с поверхностей помещений, вентиляционных труб, стоков или контейнеров с кормом. Если имеется специализированное оборудование, можно отбирать пробы циркулирующего воздуха.

## **11. Медоносные пчелы**

Взрослые умирающие или недавно умершие пчелы могут быть отобраны вблизи колоний. Живые пчелы могут быть убиты при использовании замораживания. Образцы с расплодом обычно отбираются путем удаления кусочка сот с расплодом, в которых отмечены патологии и в которых имеется погибший или изменивший цвет расплод с последующим обертыванием в бумажное полотенце или газету, а не в фольгу или вощеную бумагу для предотвращения чрезмерного роста микробов. Из пораженных болезнью сот можно поочередно отбирать пробы при помощи зубочистки или эквивалентного предмета. Можно использовать липкую пластину для отбора продуктов распада улья, включая захват подвижных паразитов. Дополнительную информацию по образцам, которые необходимо отобрать, можно найти в главах, посвященных конкретным болезням пчел данного *Руководства по наземным животным*.



## В. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОТБОРУ ПРОБ

Для получения научно и статистически достоверных результатов, образцы должны быть подходящими для назначенной цели предлагаемого исследования и у них должно быть надлежащее качество, объем и количество. Диапазон целей, в отношении которых могут проводиться исследования, подтвержденные лабораторными тестами, был описан в Разделе А выше.

В целях лабораторного тестирования для постановки диагноза важно брать пробы от животных с клинической инфекцией, либо с подозрением на достоверные признаки заражения, либо, основываясь на серологии, от животных, которые были заражены ранее. Следует отбирать образцы, которые наиболее вероятно дадут высокую чувствительность и специфичность в результате исследования. В общем, стадия инфекции, а также пути и продолжительность выделения в среду обусловит выбор подходящего животного(-ых), определение стадии клинического заболевания, срока отбора проб, а также ткани или анатомического участка для отбора образцов. Данные критерии будут рассматриваться с применением знаний патогенеза заболевания в известных обстоятельствах, и на основе гипотез насчет патогенеза заболеваний в условиях неизвестной этиологии.

Для выявления признаков инфекции наряду с другими пятью целями тестирования, как указано в Разделе А выше, отбор образцов должен быть осуществлен в рамках программы по надзору. Критерии для планирования и осуществления эффективного надзора описаны в Главе 1.4 *Надзор за здоровьем животных Кодекса здоровья наземных животных (Наземный кодекс)*. Определение животных для отбора образцов в программах по надзору может быть целевым (риск-ориентированным) или случайным. Риск-ориентированный отбор образцов, основанный на эпидемиологических знаниях об исследуемой инфекции, или на эпидемиологических наблюдениях за исследуемой популяцией направлен на наиболее вероятное выявление зараженных особей.

Заключения о статусе популяции, такие как оценка распространенности, иммунный статус или свобода от заболевания должны основываться на случайном отборе проб. Случайный отбор проб гарантирует, что животные, подвергнутые отбору образцов, являются репрезентативными для популяции, в рамках практических ограничений, налагаемых различными внешними условиями и производственными системами. Кроме того, случайный отбор образцов позволяет провести экстраполяцию результатов исследования к общей численности популяции (с надлежащим доверительным интервалом). Эпидемиологические принципы в отношении оценки размера выборки рассматриваются в Приложении 1.1.2.1.

Конкретные требования к надзору в целях демонстрации свободы от заболевания/инфекции и соответствующие требования к отбору образцов подробно рассматриваются в Статье 1.4.6 Главы 1.4 *Наземного кодекса*.

Отбор образцов и лабораторное тестирование также может использоваться для подтверждения основанной на эпидемиологии диагностики и исследований, таких как исследования типа «случай-контроль», структурированные продолжительные исследования и когортные исследования (Fosgate & Cohen, 2008; Mann, 2003; Pfeiffer,

2010). Количество и выбор животных, у которых следует отбирать образцы, а также характер образцов будет частью плана клинического исследования.

### **С. ИНФОРМАЦИЯ, КОТОРУЮ СЛЕДУЕТ ОТПРАВЛЯТЬ С ОБРАЗЦАМИ**

Конкретные образцы следует четко идентифицировать с использованием подходящих методов. Пуансоны должны выдерживать условия использования, например влажность или заморозку. Необходимо использовать химическую маркировочную ручку. Карандаш может стереться с контейнеров. Этикетки, прикрепленные на пластик, могут отвалиться при хранении при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Информация касаясь местонахождения и контактная информация отправителя материалов и предприятия, на котором отбирались образцы, информация о случае болезни и связанная с этим эпидемиологическая информация, как описано ниже, должна всегда сопровождать образцы в лабораторию. Данная документация должна быть помещена в пластиковый конверт с внешней стороны контейнера для перевозки, чтобы она была доступна для получения сведений во время транспортировки, а также она должна быть продублирована и вложена внутрь контейнера для перевозки между вторичной и наружной упаковкой (см. также Главу 1.1.3 *Транспортировка образцов животного происхождения*). Рекомендуется связаться с лабораторией-получателем для получения надлежащей формы о подаче материалов и другой соответствующей информации по перевозке и обращению с грузом.

Необходимая информация включает:

#### **1. Местонахождение и контактная информация**

- i) Имя и адрес собственника/владельца животного, собственника и/или предприятия, на котором отбирались пробы, и геолокация (широта и долгота, если возможно) места, где возникла болезнь, и соответствующая контактная информация (номера телефона и факса, адрес электронной почты).
- ii) Имя, почтовый и электронный адрес, номера телефона и факса отправителя.

#### **2. Информация о случае болезни**

- i) Предполагаемые возбудители заболевания и необходимые тесты.
- ii) Виды, порода, пол, возраст и идентификационные данные животных, у которых отбирали пробы, и номер для отслеживания при наличии такового.
- iii) Дата отбора и представления образцов.
- iv) Список и вид образцов, представленных с использованием транспортной среды.
- v) История случая болезни:
  - a) Клинические признаки и продолжительность их проявления, включая температуру больных животных, состояние полости рта, глаз и ног, и дата производства молока или яиц, соответственно.
  - b) Список и описание обследованных животных, и результаты до- и послеубойных исследований.

- c) Период времени, в течение которого больные животные находились на предприятии; если они недавно прибыли - их происхождение.
- d) Дата первых случаев и последующих случаев или гибели, вместе с соответствующими предыдущими справочными заявочными номерами, в целях отслеживания.

### **3. Эпидемиологическая информация**

- i) Описание распространения инфекции в стаде животных или домашних птиц.
- ii) Количество животных на предприятиях по видам, количеству погибших животных, количеству животных с клиническими признаками; их возраст, пол и порода.
- iii) Тип и стандарт условий содержания животных, включая меры биобезопасности и другие соответствующие факторы, потенциально связанные с возникновением случаев заболевания.
- iv) История поездок владельца за рубеж или ввоза животных из других стран или регионов.
- v) Любые лекарственные средства, получаемые животными, и время прохождения лечения.
- vi) История вакцинации, описывающая вид используемых вакцин и даты применения.
- vii) Другие наблюдения о болезни, практики условий содержания животных и другие имеющиеся обстоятельства болезни.

## **D. ПОЛУЧЕНИЕ, ХРАНЕНИЕ И АРХИВЫ ПОДАВАЕМЫХ В ЛАБОРАТОРИЮ МАТЕРИАЛОВ**

### **1. Получение образцов**

Получать, распаковывать и разделять образцы на аликвоты следует таким образом, чтобы избежать перекрестной контаминации для обеспечения достоверного тестирования образцов и предотвращения подвергания риску персонала.

Оценка риска, как указано в главе 1.1.4, должна осуществляться до создания систем работы с биологическими возбудителями болезни и токсинами, для определения надлежащих мер биобезопасности и лабораторной биозащиты. Оценка риска должна повлечь за собой разработку утвержденных принципов и порядка осуществления всего процесса получения подаваемых в лабораторию материалов.

Материалы, отправляемые в лабораторию, должны быть получены в соответствии с конкретными стандартными операционными процедурами персоналом, который имеет надлежащую квалификацию, и который, по возможности, предупрежден об ожидаемых поступлениях материалов, в целях правильного обращения с посылками при получении.

Для обеспечения надлежащего отслеживания образцов, должна быть зафиксирована следующая информация: а) время прибытия, б) отправитель информации, с) лицо, получающее образцы, и d) отправитель груза с номером отслеживания. Если в целях правовых действий или расследования требуется определенная цепь обеспечения сохранности, груз должен оставаться невскрытым и храниться в прохладном сухом защищенном от света месте до тех пор, пока не будут извещены и не придут уполномоченные сотрудники лаборатории для того чтобы получить посылку и продолжить цепь обеспечения сохранности. Лаборатории должны иметь письменную операционную инструкцию, в которой изложены требования, отвечающие национальным законодательным требованиям в отношении данных подаваемых материалов.

### **1.1. Участок приемки образцов**

Участки приемки образцов должны быть оборудованы таким образом, чтобы обеспечить безопасную работу и обработку подаваемых диагностических материалов во избежание контаминации рабочей зоны, персонала, перекрестной контаминации среди образцов, и чтобы можно было легко проводить дезинфекцию в ситуациях протечек из контейнеров, содержащих образцы. Помещение для приемки образцов должно быть чистым и иметь достаточно места для организации подачи материалов и проверки документов. В зависимости от количества ожидаемых подаваемых материалов и в зависимости от анализа риска, участок приемки образцов может быть либо специально отведенной частью диагностической лаборатории, либо отдельным помещением за пределами диагностической лаборатории.

Помещение для приемки должно иметь зону, предназначенную для распаковывания образцов, с легкоочищаемыми поверхностями и поддонами, и/или бокс микробиологической безопасности, в зависимости от анализа риска. Должно иметься достаточное по размерам и отвечающее требованиям место для хранения образцов, либо рефрижераторы либо морозильные установки, принимая во внимание время, в течение которого следует хранить образцы. Должно иметься в наличии оборудование для регистрации образцов, такое как компьютеры, принтеры или журналы учета. Для идентификации и отслеживания образцов может использоваться система штрихового кода.

### **1.2. Распаковка, регистрация и подготовка подаваемых материалов для дальнейшей обработки**

Партии должны оставаться невскрытыми до их перемещения в участок приемки образцов для дальнейшей обработки. Подаваемые материалы следует распаковывать и открывать в соответствии с указанными стандартными операционными процедурами. Следует принимать во внимание обеззараживание поверхности во избежание перекрестной контаминации, которое является частью предусмотренных процедур, обусловленных анализом риска.

Информация, которая должна быть занесена в журнал учета образцов, включает источник поставок, дату отправки материалов, состояние внешней упаковки и состояние внутренней упаковки (с указанием протечек или дефектов), состояние образцов, температуру на внутренней упаковке и любые конкретные запросы отправителя.

Дальнейшие действия могут включать маркировку контейнеров с образцами, передачу образцов в лабораторию и хранение образцов.

Упаковочный материал следует уничтожать в соответствии с национальными нормативами, которые могут включать автоклавное уничтожение всех упаковочных материалов, в зависимости от анализа риска.

Средства индивидуальной защиты (PPE) должны предоставляться для защиты персонала. Минимальными средствами индивидуальной защиты являются лабораторный халат и перчатки. В зависимости от соответствующей оценки риска также может потребоваться защита респиратором или эффективная защита от разбрызгивания (например, защитные очки).

После того как было установлено, что подаваемые материалы содержат надлежащую документацию, соответствующую образцам, и образцы находятся в хорошем состоянии, квалифицированные сотрудники лаборатории становятся ответственными за перемещение в соответствующую зону лаборатории, включая поддержание цепи обеспечения сохранности образцов, в соответствии с требованиями. Только надлежащим образом зарегистрированные (идентифицированные) образцы, отвечающие требованиям биозащиты, должны передаваться в диагностическую лабораторию. Это является хорошей практикой, и порой требованием к мерам биобезопасности и биозащите лаборатории, в зависимости от анализа риска, вкладывать контейнеры с подаваемыми образцами во вторичный контейнер для безопасного перемещения образцов внутри лаборатории.

### **1.3. Чрезвычайные ситуации**

Всеобъемлющий анализ риска определит реальные и прогнозируемые сценарии чрезвычайных ситуаций, и будет основой для подготовки плана реагирования. В частности, образцы с утечкой представляют биологическую опасность для сотрудников лаборатории и могут контаминировать окружающую среду и другие образцы. На участке приемки образцов должны быть в наличии письменные инструкции по обращению с разбитыми или протекающими пробирками. Персонал должен проходить обучение, а также должны регулярно проводиться учения и моделирование действий в чрезвычайных ситуациях.

Образцы в ухудшенном состоянии или в состоянии, неприемлемом для тестирования, следует подвергнуть деконтаминации и надлежащему уничтожению в соответствии с планом ответных действий лаборатории, как указано в предыдущем параграфе. Контаминированные поверхности лаборатории следует обеззараживать соответствующим дезинфицирующим средством. Проблему отбраковки образца и несоответствий между образцом и сопровождающей документацией следует решать, немедленно связавшись с отправителем для того чтобы переслать дублирующий образец или внести ясность в оформление документации.

## 2. Хранение и архивы

Коллекции хорошо охарактеризованных образцов, включая возбудителей заболевания, зараженные ткани и жидкости, а также отрицательные контрольные пробы тканей и жидкостей имеют большое значение для будущей научно-исследовательской работы и работы по развитию, ретроспективных исследований, эпидемиологических исследований и для предоставления особо важных эталонных материалов, используемых для стандартизации и валидации испытаний, и программ квалификационных испытаний. Кроме того, образцы, исследуемые в юридических целях, следует заносить в биобанк.

Материалы, обычно используемые в качестве эталонных стандартов и для валидации испытаний, описаны в Главе 1.1.5 *Управление качеством в ветеринарных испытательных лабораториях*. Материалы, хранящиеся в лабораторных архивах, должны быть репрезентативными для возбудителей и типов образцов, используемых в различных осуществляемых методах тестирований, и должны различным образом включать свежие и фиксированные образцы ткани и жидкости, залитые парафином образцы ткани, и стабилизированные или другим способом консервированные культуры. Всемирная Федерация коллекций культур микроорганизмов (WFCC: [www.wfcc.info/collections](http://www.wfcc.info/collections)) является полезным источником информации и справочной документации касательно формирования, хранения и получения и/или предоставления коллекций культур микроорганизмов, и она опубликовала подробное руководство по созданию и работе с коллекциями культур микроорганизмов (WFCC, 2010). В функции справочных лабораторий МЭБ входит предоставление эталонных материалов.

Основные компоненты любого лабораторного архива включают соответствующие средства стабилизации и хранения, полную систему документации и опись хранящихся материалов, и осуществление мер биозащиты и биобезопасности лаборатории, необходимых для организации работы с коллекцией.

### 2.1. Стабилизация и хранение

Метод консервирования тканей, жидкостей и культур будет зависеть от их предполагаемого использования(-ий). Образцы, хранящиеся для периодического доступа, такие как эталонные материалы для анализа, должны разделяться на аликвоты во избежание возможных проблем, связанных с многократным извлечением и возвращением на хранение. Их можно хранить отдельно от образцов или проб, хранящихся для долгопериодного, длительного консервирования. Условия хранения следует контролировать для поддержания жизнеспособности, биохимических и иммунологических свойств образцов в максимально возможной степени. Аспекты, которые необходимо учитывать для сохранения целостности образцов, должны включать защиту от обезвоживания (например, это может происходить в некоторых морозильных установках), частых или чрезмерных колебаний температуры, деградации под воздействием УФ-излучения, влажности, контаминации и возможной потери идентификационных документов и соответствующей архивной документации. Уникальные или ценные изоляты и материалы должны подвергаться стабилизации и храниться с использованием как минимум двух различных процедур и мест хранения.

Хранение при сверхнизких температурах (например, жидкий азот, криоконсервирование в морозильных установках при  $-140^{\circ}\text{C}$  или ниже) считается оптимальным методом для длительного хранения биологических материалов. Хранение при низких температурах заморозания при  $-80^{\circ}\text{C}$  и  $-20^{\circ}\text{C}$  является обычным для периодов, которые могут варьироваться от нескольких месяцев до 5 - 10 лет. Ультранизкая температура заморозания может оказаться нецелесообразным вариантом, так как ее поддержание требует затрат, но затраты следует соотносить с тем фактом, что биологическое разрушение образца по прошествии времени представляет собой возрастающий риск при более высоких температурах замораживания. Эталонные материалы, к которым требуется регулярный доступ, должны храниться в аликвотах надлежащего размера для обеспечения доступа и сведения к минимуму количества манипуляций с «основным запасом». Следует избегать многократного замораживания и оттаивания образцов, так как это может привести к изменению естественных свойств антигенов, потере жизнеспособности прихотливых возбудителей заболевания, и может вызвать чрезмерное размножение контаминантов или нежелательных микроорганизмов в образце.

Методы стабилизации и хранения образцов при комнатной температуре варьируются от имеющихся в продаже технологий, основанных на стабилизации нуклеиновой кислоты, процессах лиофилизации, до относительно простых технологий, таких как высушивание жидкостей на дисках из фильтровальной бумаги или хранение биологических образцов с обезвоживающими веществами, такими как силикатный гель или зерна риса для впитывания влаги.

Факторы, такие как скорость, при которой образец замораживается или подвергается консервированию химическими веществами, размер и плотность материала, который необходимо консервировать, контейнер и среда для хранения, а также протоколы для восстановления, оттаивания и оживления возбудителей заболевания будут варьироваться в зависимости от различных тканей и возбудителей заболевания. Независимо от того, планируется ли хранить образцы в замороженном состоянии или при температуре окружающей среды, для большинства тканей и групп возбудителей инфекции существуют конкретные консерванты, протоколы стабилизации, и условия хранения, которые считаются оптимальными; искать информацию следует в новейшей опубликованной литературе.

## **2.2. Документация и учетные записи**

Возбудители инфекции и ткани, хранящиеся в архиве, должны быть правильно идентифицированы, и должна быть зафиксирована достаточная дополнительная информация, характеризующая образец или возбудитель инфекции. Для эталонных материалов требуется дополнительная документация, которая устанавливает подлинность возбудителя инфекции или ткани. Информацию, касающуюся уникальной идентификации ткани, жидкости или возбудителя инфекции и места хранения лучше всего заносить в инвентаризационную опись в электронном или бумажном виде, где также указывается дата получения материала, дата и метод консервирования, объем хранящегося материала, источник материала, включая сопряженные виды, географическое местоположение и историю болезни животного-донора, и ситуацию по болезни в стаде птицы или скота. Дополнительная информация чрезвычайно полезна и обычно включает исходный метод

выделения/восстановления, характеристику (например, имеющиеся данные по биохимическим свойствам, титрам антител или антигенов, и генетической последовательности) а также дополнительные данные по манипуляциям с материалом (например, количество пассажей для возбудителей инфекции и клеточных линий, даты, когда архивный материал замораживали-оттаивали или регидрировали, и даты, когда его переносили в другие условия или контейнеры для хранения). Учетные записи наиболее часто организуют путем присвоения уникального идентификационного номера или буквенно-цифрового кода каждому образцу (контейнеру с образцом), который имеет перекрестную ссылку на базу данных или учетный журнал. Учетные записи могут представлять собой журналы регистрации данных, заполняемые вручную, автоматизированные электронные таблицы или специализированные компьютерные программы. Независимо от способа ведения учета, должна поддерживаться актуальность данных, и должна прослеживаться связь вводимой информации с ее источником. Должна быть зарегистрирована информация о человеке, который вносит записи или изменения в учетные записи по образцам.

### **2.3. Биобезопасность и лабораторная биозащита**

В качестве первого этапа при создании архива следует выполнить оценку биориска лаборатории, рассматривающую вопросы биобезопасности и лабораторной биозащиты, включая любые контрольные меры или меры, снижающие степень риска, которые должны осуществляться. Как указано в Главе 1.1.4, надлежащая оценка риска в отношении архивных образцов должна рассматривать техническую подготовку, требуемую от персонала, работающего с тканями, жидкостями, и возбудителями, причем особое внимание следует уделять материалам, представляющим потенциальную инфекционную или токсическую угрозу для работников, животных и окружающей среды внутри и вокруг лаборатории. Лаборатория должна рассматривать все меры управления биориском, необходимые для защиты целостности образца, а также здоровья работников и окружающей среды, с момента получения исходного образца, в течение длительного хранения и до конечного использования или уничтожения материала(-ов).

Важным фактором для лабораторий, ведущих учетные записи и архивы по биологическим материалам, является надлежащий уровень лабораторной биозащиты, включая ограниченный доступ к архивным образцам и учетным записям. Лаборатория также должна иметь запасной план для перемещения или уничтожения потенциально опасных архивных материалов в случае нарушений электроснабжения или других нарушений условий хранения. Национальные и международные нормативы и законы должны соблюдаться в отношении всех лабораторных архивов, включая требования к разрешающим документам и лицензиям для получения, хранения, работы и распределения специфических возбудителей заболевания и тканей. Существующую нормативную информацию в отношении получения и хранения биологических материалов можно найти на веб-сайте Сети европейских биологических ресурсных центров ([www.ebrcn.net/](http://www.ebrcn.net/)), в руководстве WFCC (2010) и в соответствующих национальных государственных учреждениях.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ANON (1993) Removal of blood from laboratory mammals and birds. First Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW/Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*, 27, 1–22.
- FOSGATE G.T. & COHEN N.D. (2008) Epidemiological study design and the advancement of equine health. *Eq. Vet. J.*, 40 (7), 693–700.
- HEM A., SMITH A.J. & SOLBERG P. (1998). Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig, ferret and mink. *Laboratory Animals*, 32 (4), 364–368.
- MANN C.J. (2003). Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. *Emerg. Med. J.*, 20, 54–60.
- PFEIFFER D. (2010). *Veterinary Epidemiology: An Introduction*. Wiley-Blackwell; pp; 37–41.
- WORLD FEDERATION FOR CULTURE COLLECTIONS (2010). Guidelines for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms, Third Edition, Revised by the WFCC Executive Board. ISBN 92 9109 043 3.

### ПРИЛОЖЕНИЕ 1.1.2.1.

#### **ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОТБОРУ ОБРАЗЦОВ: ПОДСЧЕТ ОБЪЕМА ВЫБОРКИ**

Вид и количество необходимых образцов зависит от заданной цели. Подсчет объема выборки для каждой из основных целей тестирования, когда использовался случайный отбор проб, может выполняться следующим образом:

#### **1. Демонстрация свободы от инфекции в определенной популяции (страна/зона/компаратмент/стадо, где распространенность практически равна нулю)**

Зачастую, целью отбора образцов является определение наличия или отсутствия болезни в популяции при конкретном пороговом значении (расчетная распространенность). Данные методы отбора образцов необходимы для проведения научно-обоснованных обследований, описанных в *Кодексе здоровья наземных животных* МЭБ, с целью установления статуса свободы с использованием вакцинации и без, а также для восстановления статуса свободы после вспышек.

Возможно подсчитать количество животных в стаде животных/птиц определенного размера, которых следует подвергнуть отбору проб, для достижения 95% вероятности

выявления инфекции или перенесенного заболевания, наличие которого допускается у определенной доли животных.

$$n \cong \frac{(1 - (1 - CL)^{1/D})(N - 1/2)(SeD - 1)}{Se}$$

Где

$n$  – требуемый объем выборки

$CL$  – уровень достоверности (обычно 0,95)

$N$  – размер популяции

$D$  – предположительное количество заболевших животных в популяции

$Se$  – диагностическая чувствительность используемого теста

Например, для определения объема выборки, необходимого для выявления с 95% достоверностью как минимум одного инфицированного животного в стаде из 500 животных при расчетной распространенности 10%, вышеуказанная формула будет использоваться следующим образом (при условии идеальной чувствительности диагностики):

$$n \cong (1 - (1 - 0.95)^{1/50})(500 - 1/2)(50 - 1) \cong 28$$

Если лабораторные результаты отрицательные для всех образцов, эпидемиолог может заключить, с 95% достоверностью, что распространенность ниже 10%. Если рассматриваемая болезнь является особо опасной, и маловероятно, что только 10% животных заразятся, стадо можно считать свободным от заболевания. Однако, если один или несколько образцов окажутся положительными, эпидемиолог может заключить, с 95% достоверностью, что распространенность заболевания равна как минимум 10%.

## **2. Подтверждение свободы от инфекции или наличия возбудителя инфекции у отдельных животных или в продуктах, в целях торговли/перевозки.**

В *Наземном Кодексе* даются конкретные рекомендации для торговых целей. Одни основаны на демонстрации свободы от заболевания на уровне стада птицы или животных, другие – на тестировании отдельных животных, предназначенных для экспорта. Когда рекомендуется подтверждение свободы от заболевания в стаде птиц или животных, можно использовать подход, описанный в пункте 1 выше, для подсчета количества требуемых образцов.

В случае тестирования отдельных животных, обычно ожидается, что все животные будут протестированы. Важным вопросом в данном случае является прогностичность отрицательного результата теста (NPV) и вероятность получения как минимум одного животного в группе с ложноотрицательным результатом. Прогностичность отрицательного результата теста определяется как вероятность того, что животное не заражено, поскольку в результате теста был получен отрицательный результат. Прогностичность отрицательного результата это функциональная зависимость диагностической чувствительности и специфичности используемого теста(-ов) и распространенности инфекции в популяции откуда происходят животные. В общем,

вероятность получения как минимум одного ложноотрицательного результата в группе вычисляется таким образом:

$$P(x \geq 1) = 1 - (1 - NPV)^n$$

Прогностичность отрицательного результата вычисляется следующим образом:

$$NPV = \frac{TN}{TN + FN} = \frac{(1 - p)Sp}{(1 - p)Sp + p(1 - Se)}$$

Где:

*TN* – истинно отрицательный результат

*FN* – ложноотрицательный результат

*Se* – диагностическая чувствительность

*Sp* – диагностическая специфичность

*p* – распространенность

*n* – количество животных в группе

Дополнительную информацию по количественному измерению данных типов вероятностей можно найти в *Руководстве МЭБ по анализу риска при импорте животных и животноводческой продукции, Количественный анализ риска.*

### **3. Искоренение болезни или устранение инфекции в определенных популяциях**

Цель надзора в случае вспышки - попытаться найти оставшиеся очаги инфекции. Отбор проб должен быть направлен на популяции с наибольшим риском воздействия инфекции, или на популяции с большой вероятностью обнаружения возбудителя заболевания, например на животных, демонстрирующих клинические признаки, или животных, которые предположительно контактировали с зараженными животными. Если животные в выбранном стаде животных или птиц не имеют клинических признаков, следует отбирать репрезентативный образец на основе формулы для определения наличия или отсутствия заболевания, указанной в пункте 1 выше.

### **4. Подтверждающая диагностика подозрительных или клинических случаев (содержит подтверждение положительного скринингового теста)**

Подозрительные или клинические случаи с положительными результатами скринингового теста следует повторно проверять при помощи подтверждающего теста. Обычно используется тест с высокой диагностической чувствительностью в целях скрининга, и какой-либо тест с высокой диагностической специфичностью для подтверждения. Если объектом исследования является статус стада животных или птиц, образцы следует отбирать у животных, демонстрирующих клинические признаки, соответствующие исследуемой болезни. Это увеличит вероятность подтверждения наличия инфекции. При необходимости можно использовать формулу для определения наличия или отсутствия болезни, указанную в пункте 1 выше, для подсчета количества требуемых образцов. Учитывая то, что отбор образцов направлен на животных, демонстрирующих клинические признаки, используемая расчетная распространенность может быть относительно высокой, и давать меньший объем выборки.

## 5. Оценка распространенности инфекции

Для программ по борьбе с заболеваниями периодически требуется проводить оценку влияния контрольных мер. Одним из основных показателей успеха является снижение распространенности заболевания. Для определения распространенности заболевания внутри группы животных можно использовать следующую формулу для определения количества требуемых образцов.

$$n = \frac{Z^2 pq}{L^2}$$

Где:

$n$ : требуемый объем выборки

$Z$ : значение  $Z$ -распределения для желаемого уровня достоверности (обычно 95%)

$p$ : ожидаемая распространенность в популяции

$q$ :  $1-p$

$L$ : уровень точности (допустимая погрешность)

Не существует твердых правил для определения уровня точности (иногда называемого допуском на погрешность), выбор остается за эпидемиологом, осуществляющим исследование. Однако более высокие уровни точности требуют более значительных объемов выборки. Соответствующее значение  $Z$ -распределения для 95%-ой достоверности равно 1,96. Для определения распространенности заболевания с 95%-ой достоверностью в стаде из 500 животных с ожидаемой распространенностью заболевания, равной 20%, при уровне точности  $\pm 3\%$ , требуемый объем выборки можно высчитать следующим образом:

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.2 \times 0.8}{0.03^2} = \frac{0.6146}{0.0009} \cong 683$$

Следует заметить, что в данном случае требуемый объем выборки превышает размер популяции, таким образом, придется скорректировать объем выборки, принимая во внимание размер популяции ( $N$ ):

$$n_{adj} = \frac{1}{\frac{1}{n} + \frac{1}{N}} = \frac{1}{\frac{1}{683} + \frac{1}{500}} \cong 289$$

Таким образом, случайному отбору проб придется подвергнуть 289 животных.

## 6. Определение иммунного статуса у отдельных животных или популяций (после вакцинации)

Программы по борьбе с заболеваниями часто опираются на вакцинацию в качестве метода, в таких случаях важно оценить показатель охвата для иммунитета, а не просто подсчитать количество вакцинированных животных или стад. Наблюдается функциональная зависимость между долей животных, которых следует иммунизировать для того чтобы остановить распространение заболевания в популяции, и количеством случаев вторичной инфекции, возникающих вследствие единичного случая заражения (количественный показатель воспроизведения,  $R_0$ ). Что касается многих инфекционных

заболеваний, доля животных, нуждающихся в иммунитете в целях контроля за распространением заболевания, составляет приблизительно 80%. Можно применить два подхода. Если целью является определение доли иммунных животных, можно применить формулу для определения распространенности, указанную в пункте 5 выше. Однако если руководители программы хотят оценить, находится ли напряженность иммунитета стада на уровне или выше определенного порогового значения, следует использовать формулу для определения наличия или отсутствия болезни, указанную в пункте 1 выше. В зависимости от цели, объем выборки варьируется в широких пределах.

Если нужно оценить иммунный статус стада, состоящего из 500 животных, каждое из которых было вакцинировано, можно использовать следующие подходы.

### 6.1. Определение доли иммунных животных в группе

- Ожидаемая распространенность (в отношении иммунных животных) 80%
- Точность в данном примере 3%
- Уровень достоверности 95%

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.8 \times 0.2}{0.03^2} = \frac{0.6146}{0.0009} \cong 683$$

$$n_{adj} = \frac{1}{1/n + 1/N} = \frac{1}{1/683 + 1/500} \cong 289$$

### 6.2. Оценка иммунитета при определенном пороговом значении

- Ожидаемая распространенность (в отношении иммунных животных) 80%, т.е. 400 из 500 животных
- Уровень достоверности 95%
- Идеальная чувствительность диагностики

$$n \cong (1 - (1 - 0.95)^{1/400})(500 - 1/2(400 - 1)) \cong 3$$

Если как минимум один из трех образцов окажется положительным в результате теста, можно с 95%-ой достоверностью утверждать, что доля иммунных животных в стаде составляет как минимум 80%. Если ни один образец не окажется положительным, стадо животных не может считаться достаточно иммунизированным. Такой подход может использоваться для определения географических мест или видов производственных систем, где показатель охвата для иммунитета низкий и требуется ревакцинация.

### Ресурсы в режиме онлайн

Open Epi - <http://www.openepi.com/OE2.3/Menu/OpenEpiMenu.htm>

Free Calc - <http://www.ausvet.com.au/content.php?page=software#freecalc>

Win Episcoper: <http://www.clive.ed.ac.uk/cliveCatalogueItem.asp?id=B6BC9009-C10F-4393-A22D-48F436516AC4>