

Stanovisko / Opinion

Hodnotenie rizika výskytu besnoty v Slovenskej republike

Risk assessment of occurrence of rabies in the Slovak republic

MVDr. Vilém Kopřiva, PhD., Krajská veterinárna a potravinová správa Trenčín,
Súdna 22, 911 01 Trenčín

Abstrakt

Besnota je akútna vírusová choroba centrálného nervového systému teplokrvných živočíchov, ktorá postihuje domáce a voľne žijúce zvieratá; patrí medzi zoonózy, je prenosná aj na človeka. Je jednou z najstarších známych infekčných chorôb zvierat a ľudí. Prakticky vo všetkých prípadoch má nevyhnutne fatálny priebeh. V súčasnosti má globálne rozšírenie. Priaznivá epizootologická situácia v besnote na území Slovenskej republiky je výsledkom vykonávania orálnej antirabickej vakcinácie hlavného rezervoárového druhu – líšky hrdzavej.

Abstract

Rabies is the acute viral disease of central nervous system of warm-blooded animals, which affect domestic and wildlife animals; is zoonosis, transmissible on human. It is one of the oldest known infectious diseases of animals and humans. Disease process of each of cases is practically fatal. Rabies has globally dissemination on the present. The rabies occurrence on Slovak territory proves the effectiveness of the performance of oral vaccination of the reservoir species – the red fox.

Kľúčové slová: Besnota, vírus besnoty, líška hrdzavá, prevencia

Keywords: Rabies, rabies virus, red fox, prevention

Mandát

Štátna veterinárna a potravinová správa SR predložila na 10. rokovanie Komisie pre bezpečnosť potravín návrh na hodnotenie rizika „**Besnota – vedecké hodnotenie rizika**“. Návrh bol predložený na základe požiadaviek praxe a Národnej odbornej vedeckej skupiny pre zdravie zvierat (NOVS). Komisia pre bezpečnosť potravín jednohlasne odporúčala návrh na hodnotenie rizika prijať a ako riešiteľa odporučila MVDr. Viléma Kopřivu, PhD.

Odbor bezpečnosti potravín a výživy prijal mandát a zostavil Dohodu o vykonaní práce na vypracovanie hodnotenia rizika v termíne od 01. 06. 2011 do 31. 10. 2011. Hodnotenie rizika bolo podrobené verejnej diskusii v rámci NOVS pre biologické riziká a NOVS pre zdravotný stav a ochranu dobrých životných podmienok zvierat. Prebratie bolo ukončené až po zapracovaní prijatých pripomienok.

Vypracovaním a zverejnením hodnotenia rizika na webovej stránke Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky (MPRV SR) a na Platforme pre výmenu informácií Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín (EFSA) sa splní čl. 2, bod a), odsek 3 Dohody medzi EFSA a MPRV SR o zabezpečení výmeny informácií o nepretržitom hodnotení rizika a pripravovaných názoroch v SR.

Obsah

ABSTRAKT	1
ABSTRACT	1
MANDÁT	2
OBSAH	3
1 ÚVOD	4
2 CHARAKTERISTIKA.....	4
2.1 ETIOLÓGIA BESNOTY	4
2.2 EPIZOOTOLÓGIA A PATOGENÉZA BESNOTY	4
2.3 KLINICKÉ PRÍZNAKY	8
2.4 DIAGNOSTIKA BESNOTY.....	9
2.5 PREVENCIA A TLMENIE BESNOTY	13
2.6 ORÁLNA ANTIRABICKÁ VAKCINÁCIA LÍŠOK V SLOVENSKEJ REPUBLIKE	14
2.7 VÝVOJ EPIZOOTOLOGICKEJ SITUÁCIE V BESNOTE V JEDNOTLIVÝCH ŠTÁTOCH EURÓPY	16
2.8 VÝVOJ EPIZOOTOLOGICKEJ SITUÁCIE V BESNOTE NA SLOVENSKU.....	21
3 ZÁVER.....	25
4 POUŽITÁ LITERATÚRA	26

1 Úvod

Besnota je akútna vírusová choroba centrálného nervového systému teplokrvných živočíchov. Postihuje domáce a voľne žijúce zvieratá, vnímavý je aj človek. Je jednou z najstarších známych infekčných chorôb zvierat a ľudí. Má charakteristickú symptomatológiu a latinský názov "Rabies" a grécky "Lyssa" sú odvodené od slovných základov, vyjadrujúcich charakteristický klinický príznak - zúrivosť, zlosť (Johnson 1948).

Výskyt choroby, pripomínajúcej besnotu, bol zaznamenaný už pred 5 000 rokmi. Prvé historicky doložené údaje o výskyte besnoty sú zo starovekého Egypta a Indie. V meste Eshnunna (dnešný Tel Asmar, Irak) v starej Babylónii už v 23. storočí pred n.l. existovali zákony, regulujúce potrestanie majiteľa psa chorého na besnotu, ktorý pohryzol človeka a tento na následky pohryznutia zomrel (Švrček a kol., 2001). Prvýkrát klinický obraz besnoty popísal Demokritos (460-370 rokov pred n.l.) a tiež Aristoteles v r. 322 pred n.l., ktorý už vedel, že choroba vzniká po pohryzení besným zvierateľom. V prvom storočí n.l. Celsus popísal besnotu ľudí a nazval ju hydrofóbia.

Názor, že besnota je infekčná choroba experimentálne potvrdil Zinke v r. 1804, keď infikoval zdravého psa slinami chorého psa. Najväčším prínosom pre poznanie tejto nebezpečnej nákazy sú práce Louisa Pasteura (1885) a jeho spolupracovníkov, ktorí koncom 19. storočia položili základy výskumu a imunoprophylaxie besnoty. Experimentálne dokázali, že pôvodca choroby môže byť izolovaný z mozgu uhynutého zvierat'a, rozpracovali intracerebrálny spôsob inokulácie a dali základ pre široký výskum besnoty a antirabickej imunizácie.

2 Charakteristika

2.1 Etiológia besnoty

Vírus besnoty je neurotropný vírus – *Rabies virus* patriaci do rodu *Lyssavirus* a čeľade *Rhabdoviridae*. V súčasnosti na základe sekvenovania genómu (regiónov N, P a G) bolo stanovených 7 genotypov lyssavírusov (Badrane a kol., 2001). Okrem vírusu besnoty – *Rabies virus* (genotyp 1) do rodu *Lyssavirus* sú zaradené ďalšie vírusu besnoty podobné lyssavírusy: *Lagos bat virus* (genotyp 2), *Mokola virus* (genotyp 3), *Duvenhage virus* (genotyp 4), *European bat Lyssavirus EBL-1* a *EBL-2* (genotyp 5 a 6) a *Australian bat lyssavirus* (genotyp 7), (McColl a kol., 2000) (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Čel'ad' Rhabdoviridae – rod Lyssavirus

Genotyp alebo druh	Geografické rozšírenie	Vnimavosť
1. <i>Rabies</i>	Celý svet, s výnimkou: Austrália, Britské ostrovy, Írsko, Nový Zéland, Japonsko, Škandinávia, Havai	Človek, voľne žijúce a domáce mäsožravce a bylinožravce, netopiere
2. <i>Lagos bat</i>	Nigéria, Stredná Afrika, Južná Afrika, Zimbabwe, Guinea, Senegal, Etiópia, Egypt	Fruktívorné netopiere, mačky, psy
3. <i>Mokola</i>	Nigéria, Stredná Afrika, Zimbabwe, Kamerun, Etiópia	Človek, bielozubky, mačky, psy, hlodavce
4. <i>Duvenhage</i>	Južná Afrika, Zimbabwe	Človek, insektivorné netopiere
5. <i>EBL 1</i>	Európske krajiny	Človek, insektivorné netopiere
6. <i>EBL 2</i>	Európske krajiny	Človek, insektivorné netopiere
7. <i>ABL</i>	Austrália	Človek, insektivorné netopiere, fruktívorné netopiere

Zdroj: McColl a kol., 2000.

Rabies virus (genotyp 1, sérotyp 1) zahrňuje prakticky všetky epizootické kmene rabického vírusu izolované na celom svete, jednak z terestriálnych mamálií a tiež z netopierov Severnej a Južnej Ameriky. Sem patria aj všetky vakcinačné kmene, doteraz používané na prípravu parenterálnych a orálnych antirabických vakcín. Lyssavírusy genotypu 1 majú v súčasnosti zastúpenie na všetkých kontinentoch s výnimkou Oceánie; v Európe mimo Veľkej Británie, Írska, Nórska, Švédska. Vírus besnoty sa prenáša jedným alebo viacerými druhmi voľne žijúcich a domácich zvierat (Winkler, 1991).

V Európe prameňom nákazy pri besnote je takmer výlučne líška hrdzavá (*Vulpes vulpes*), v niektorých krajinách (Poľsko, Ukrajina, Bielorusko) tiež psík medvedikovitý (*Nyctereutes procyonoides*) a vlk obyčajný (*Canis lupus*) (Bourhy a kol., 1999). V Severnej Amerike je hlavným rezervoárovým druhom líška šedá (*Urocyon cinereoargenteus*), skunk smradľavý (*Mephitis mephitis*) a medvedík čistotný (*Procyon lotor*). Epizootologický a epidemiologický význam majú tiež hmyzožravé netopiere. Podobne je to aj v Južnej a Strednej Amerike, kde je rozšírená besnota hlavne u hematofágnych vampírov, zvlášť u druhu desmod červený (*Desmodus rotundus*). V Ázii prameňom nákazy sú psy, vlci, šakaly (*Canis*

aureus), líšky, mačky, mungo (rod *Ichneumon*), v Afrike šakaly, kojoty a mangusty; v arktických oblastiach líška polárna (*Alopex lagopus*).

Na základe výsledkov molekulovo-genetických štúdií bola vytvorená klasifikácia európskych netopierích lyssavírusov, ktoré tvoria samostatnú skupinu vírusu besnoty podobných lyssavírusov. V súčasnosti sa rozlišujú 2 genotypy – EBL1 a EBL2. Na základe sekvenovania genómu bol EBL1 zaradený do lyssavírusov ako genotyp 5 a EBL2 ako genotyp 6 (Bourhy a kol., 1992; 1993); obidva sa ďalej rozdeľujú do dvoch geneticky rozlíšiteľných línií *a* a *b* (Amengual a kol., 1997; Serra-Cobo a kol., 2002). Netopier večernica pozdná (*Eptesicus serotinus*) je hlavným rezervoárovým druhom lyssavírusu EBL1; druhy netopier pobrežný (*Myotis dasycneme*) a netopier vodný (*Myotis daubentonii*) sú hlavné rezervoárové druhy lyssavírusu EBL2. Podľa Müllera (2000) až v 95 % zo všetkých prípadov besnoty u netopierov v Európe je lyssavírusom EBL1 a EBL2 infikovaným netopierím druhom najčastejšie večernica pozdná (*Eptesicus serotinus*).

2.2 Epizootológia a patogenéza besnoty

Ako pramene nákazy a rezervoárové druhy pri besnote z celkového počtu 19 radov mamálií sú významné len 2 rady: *Carnivora* a *Chiroptera* (Irwin,1970); ďalší rad *Rodentia* môže mať pravdepodobne význam len za určitých okolností. Pri besnote z epizootologicko-ekologického hľadiska rozlišujeme dva samostatné epizootologické cykly: besnotu chiroptérov a besnotu terestriálnych mamálií (karnivorov) (Tabuľka č. 2) Besnota chiroptérov sa vyskytuje hlavne na americkom a na africkom kontinente. Významná je besnota hematofágnych vampírov (rozhodujúci rezervoárový druh *Desmodus rotundus*), ktoré nehibernujú a sú stenotermné. V európskych podmienkach je významná lyssavírusová infekcia EBL1 a EBL2. Rozhodujúci význam ako rezervoárový druh má večernica pozdná (*Eptesicus serotinus*) a večernica malá (*Pipistrellus pipistrellus*) (Beníšek a kol., 1991; Ondrejka a kol., 1992).

Besnota terestriálnych mamálií je v súčasnosti rozšírená prakticky na celom svete, s výnimkou Oceánie. Rozšírenie choroby je podmienené jednak prírodnými ekologickými podmienkami; mimoriadne významné sú antropogénne vplyvy, zvlášť ekonomická úroveň štátu a z toho vyplývajúca úroveň činnosti veterinárnej služby.

Otázka rezervoárových druhov nie je jednoznačne doriešená v konkrétnych ekologických podmienkach pri besnote voľne žijúcich zvierat, resp. v zmiešaných ohniskách.

A. CHIROPTERICKÝ CYKLUS

- **Besnota hematofágnych vampírov**
 - **Besnota** a ďalšie **lyssavírusové infekcie** insektivorných a fruktivorných netopierov
-

B. TERESTRIÁLNY CYKLUS

- **Silvatická forma**
 - **Urbánna forma**
 - **Zmiešaná forma**
-

Zdroj: (Švrček, 1992b)

Všeobecne akceptovanou je klasifikácia ohnisk besnoty, rozlišujúca dve epizootologické formy: urbánna (sídľisková) forma; táto o.i. prevládala v Európe pred druhou svetovou vojnou. Pramene nákazy pri urbánnej forme besnoty sú uniformné v celosvetovom meradle. Pri nej prakticky rezervoárovým druhom je pes domáci, v súčasnosti je dominujúcou formou hlavne v štátoch Ázie a Afriky, kde epizootologická a epidemiologická situácia je priam hrozivá. Výskyt besnoty u psov, ale v poslednej dobe aj u mačiek, je veľmi variabilný a závisí od epizootologickej situácie danej krajiny.

V ekonomicky vyspelých štátoch s dobre organizovanou veterinárnou službou v súčasnom období prevláda silvatická – prírodné ohnisková (lesná, besnota voľne žijúcich zvierat) forma; pričom rezervoárovými druhmi sú voľne žijúce karnivory. V rámci určitej zoogeografickej oblasti za udržiavanie prírodných ohnisk besnoty je zodpovedných niekoľko druhov karnivorov, pričom jeden z nich má dominantné postavenie.

Počínajúc 40-tyimi rokmi 20. storočia v epizootológii besnoty v Európe nastali podstatné zmeny. Počas 2. svetovej vojny boli zistené prvé nové prírodné ohniská besnoty líšok a jazvecov vo Východnom Prusku (Winkler a kol., 1975). Každoročne dochádzalo k posunu o dvadsať až šesťdesiat kilometrov západne od Poľska do vzdialenosti asi 1.400 kilometrov. V priebehu ďalších desaťročí, napriek uplatneniu prísnych (klasických) protinákazových opatrení, epizoócia „líščeje“ besnoty sa rozšírila prakticky na celom území Európy, s výnimkou Veľkej Británie a Írska (Brochier a kol., 2001).

Väčšina prípadov besnoty od druhej polovice 50-tych rokov bola diagnostikovaná u líšok. Práve v tomto období došlo k zmene urbánnej formy besnoty na silvatickú, čo si jednoznačne vynútilo zmenu stratégie v boji s touto závažnou zoonózou (Müller a Schlüter, 1998). Rezervoárom besnoty v Európe sú voľne žijúce zvieratá, predovšetkým líšky, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu pri expozícii domácich zvierat. V poslednom období z ďalších

druhov voľne žijúcich zvierat sa v niektorých častiach Európy (Poľsko, Ukrajina, Bielorusko) vyskytuje besnota u introdukovaného psíka medvedíkovitého (Vos a kol., 2001; Zienius a kol., 2003).

Vnímovosť jednotlivých druhov zvierat k vírusu besnoty je rozdielna, podmienená predovšetkým vekom a tiež vnútornými a vonkajšími vplyvmi oslabujúcimi nešpecifickú imunitu. Pri prirodzenom spôsobe prenosu je vstupnou bránou infekcie porušená koža. Vírus sa obyčajne dostáva do rany slinami po pohryzení besným zvierat'om. Tento prenos nákazy je najčastejší a najzávažnejší, avšak nemusí to byť jediný spôsob prenosu infekcie. Do úvahy prichádza aj aerogénna a alimentárna infekcia, diaplacentárny prenos a prenos mliekom na cicajúce mláďatá. Patogenéza besnoty zahŕňa 3 fázy: *extraneurálnu fázu* – v jej priebehu nie je možné dokázať multiplikáciu vírusu, *intraneurálnu fázu* – táto predstavuje postup infekcie vo vnútri CNS a *disemináciu vírusu v organizme* neurálnou cestou.

Vírus besnoty sa šíri centripetálne z miesta infekcie po nervových dráhach do CNS, kde sa replikuje. Centrifugálny pohyb rabického vírusu využíva zrejme tie isté cesty ako centripetálny prenos, vírus sa nervovými dráhami dostáva z CNS do slinných žliaz prípadne do iných orgánov (rohovka, slzné žľazy, šošovka, parenchymatózne orgány).

2.3 Klinické príznaky

Dĺžka inkubačnej doby pri besnote zvierat a ľudí je variabilná, kolíše v rozpätí 14-90 dní, výnimočne môže byť aj podstatne dlhšia. Symptomatológia besnoty u rôznych druhov zvierat je v podstate zhodná. Besnota sa obvykle vyznačuje akútnym priebehom (2-14 dní); končí smrteľne. Pri besnote aj keď sa rozlišuje niekoľko foriem klinického priebehu choroby, najčastejšou je *zúrivá forma* – pre besnotu najtypickejšia, charakterizovaná tromi štádiami (*prodromálne, excitačné, paralytické*), končiaca smrťou a *tichá forma* s absenciou štádia excitácie. Pri zúrivej forme sa v prodromálnom (iniciačnom) štádiu zisťujú zmeny v správaní; zviera sa stáva apatické, neposlušné (neochotne plní príkazy chovateľa, alebo na ne nereaguje), uteká z domu, schováva sa na tmavé miesta; charakteristickým príznakom pre toto štádium u psov je zvrátená chuť (parorexia), ktorá sa prejavuje požieraním cudzích predmetov, čo sa prejavuje vylámanými zubami a zlomeninami hornej čeľuste a sánky. V excitačnom (maniakálnom) štádiu sa intenzita klinických príznakov stupňuje, pozoruje sa nekľud, agresivita, choré zviera napáda iné zvieratá a ľudí. Stavby excitácie striedajú stavy

depresie. V paralytickom štádiu dochádza k parézam a paralýzám hltacieho svalstva (narušené a bolestivé hltanie, zvýšená salivácia, ovisnutý jazyk z papule), panvových končatín, chvosta, svaloviny močového mechúra a konečníka.

Patologicko-anatomický nález pri besnote je nešpecifický a pre určenie diagnózy nemá podstatný význam. Významná je vonkajšia obhliadka kadáveru, poranenia pyskov, jazyka, ďasien a ďalších častí sliznice ústnej dutiny, tiež vylámané zuby. Vykonanie pitvy nie je indikované. Podozrenie vzbudzuje abnormálny obsah žalúdka a prítomnosť cudzích predmetov. Zisťuje sa katarálna, resp. hemoragická gastroenteritída, krvácaniny na sliznici žalúdka a tenkého čreva. Slinné žľazy bývajú zväčšené, prekrvené s krvácaninami; mozgové blany sú hyperemické, pozoruje sa edém a krvácaniny na mozgu. Pri histologickom vyšetrení CNS sa zisťuje nehnisavá encefalomyelitída, degenerácia gangliových buniek, neurónofágia, zväčšenie gangliových buniek. Pre besnotu sú patognomické cytoplazmové polymorfne eozinofilné inklúzie s vnútornou bazofilnou štruktúrou – *Babes-Negriho telieska*, ktoré sa vyskytujú v neurónoch mozgu, v nervových gangliách, najčastejšie však v Ammonovom rohu.

2.4 Diagnostika besnoty

S ohľadom na mimoriadnu epizootologickú a epidemiologickú závažnosť choroby, je potrebné venovať veľkú pozornosť včasnému a spoľahlivému určeniu diagnózy, ktorá sa stanoví na základe komplexného klinického, epizootologického a laboratórneho vyšetrenia. Rozhodujúci význam má laboratórne vyšetrenie.

Laboratórna diagnostika besnoty je medzinárodne štandardizovaná (OIE, 2004), vykonáva sa v zmysle doporučení WHO v špecializovaných laboratóriách pre diagnostiku besnoty, ktorými na území SR sú ŠVÚ Zvolen a ŠVPÚ (Bratislava, Dolný Kubín, Košice). Nadstavbové vyšetrenia sa vykonávajú v Národnom referenčnom laboratóriu pre besnotu (NRLB) vo Zvolene a v medzinárodných referenčných centrách.

Na laboratórne vyšetrenie vzoriek odobratých *post mortem* sa zasielajú celé kadávery malých zvierat, u stredných a veľkých zvierat sa zasiela hlava s dvomi krčnými stavcami. V prípade poškodenia hlavy sa zasiela lumbálna časť miechy. Nakoľko rabický vírus je termolabilný, vzorky sa zasielajú vychladené, pri dodržaní zásady troch obalov.

Pred vykonaním vlastného laboratórneho vyšetrenia sa vykoná neúplna (parciálna) pitva, odoberú sa vzorky mozgu z 5-tich predilekčných miest (Ammonove rohy, kôra mozgu, mozoček, báza mozgu a predĺžená miecha, prípadne lumbálna časť miechy alebo slinných žliaz). Ak je vykonanie parciálnej pitvy kontraindikované (u ľudí z rituálnych dôvodov, u zvierat v prípade trofeje), vzorky jednotlivých častí mozgu je možné získať alternatívnymi metódami odberu, využitím tzv. rýchlych odberných techník. Vzorky odobraté *intra vitam* v priebehu klinického ochorenia, hlavne pri podozrení na expozíciu človeka je možné použiť na detekciu rabického vírusu v otláčkových preparátoch rohovky, v mozgovo-miešnom moku, v slinách, v otláčkových preparátoch biopsií koreňov taktilných chlpov a pod. Vzorky odoberané *intra vitam* často dávajú negatívne výsledky, čo ale nevylučuje možnosť besnoty. Preto sa odporúča odoberať viac vzoriek a testy opakovať.

Laboratórna dignostika besnoty zahŕňa metódy detekcie a identifikácie vírusu besnoty a metódy detekcie špecifických protilátok.

Metódy na detekciu a identifikáciu pôvodcu

MIF – metóda imunofluorescencie, *FAT* – fluorescent antibody test - je v súčasnosti najčastejšie používanou metódou laboratórnej diagnostiky besnoty. Slúži predovšetkým na detekciu rabického N-antigénu. Významná je časová nenáročnosť jej vykonania (2-3 hodiny po obdržaní materiálu), takmer 100% (99,99%) špecificita a vysoká citlivosť (Bourhy a Sureau, 1991). Metóda imunofluorescencie sa všeobecne delí na priamu a nepriamu metódu. V diagnostike besnoty sa využíva *priama metóda imunofluorescencie (PMIF)*. Na otláčkový preparát mozgu je po fixácii navrstvený antirabický konjugát. V pozitívnom prípade sa na tmavom pozadí pozorujú intenzívne žltozelené fluoreskujúce polymorfne (obyčajne okrúhle alebo oválne) útvary. Pri pozitívnom výsledku detekcie rabického antigénu PMIF je nákaza potvrdená, ak je výsledok vyšetrenia PMIF negatívny a zviera exponovalo človeka alebo domáce zviera, vykoná sa izolačný pokus; pre izoláciu vírusu besnoty sa využívajú metódy *in vivo* a *in vitro*: myši intracerebrálny inokulačný test (MICIT) a izolácia vírusu *in vitro* na BK.

MIT – myši inokulačný test (*mouse inoculation test*) - je tradičná *in vivo* metóda používaná na izoláciu vírusu. Využíva sa predovšetkým pri negatívnom výsledku PMIF, ak zviera exponovalo človeka alebo domáce zviera a tiež pri izolácii kmeňov vírusu besnoty, resp. ďalších lyssavírusov. V súčasnosti sa v rabiologických laboratóriách pre izoláciu vírusu

besnoty využíva *in vitro* metóda izolácia na bunkových kultúrach ako náhrada biologického pokusu na myšiach.

RTCIT – rabický tkanivovo-kultivačný infekčný test, (rabies tissue-culture infection test - je metóda založená na izolácii vírusu na bunkových kultúrach, výsledok sa získa za 18-72 hod. K inokulácii bunkových kultúr sa používa supernatant suspenzie vyšetovaných vzoriek. Na primoizoláciu vírusu besnoty sa využívajú stabilné bunkové línie BHK 21, CER, a iné; v súčasnosti však prednostne myšacie neuroblastómové bunkové línie N2a (CCL 131).

RREID – rýchly rabický enzymatický imunodiagnostický test (rapid rabies enzyme immunodiagnosis), ktorý sa využíva v ostatnom období na detekciu rabického nukleokapsidového antigénu; zvlášť je odporúčaná modifikácia RREID – RREID-biot, ktorý umožňuje získať výsledky za 3 hod., resp. RREID-lyssa za 4 hod.

Detekcia Babes-Negriho teliesok (BNT) - metóda je založená na mikroskopickej detekcii cytoplazmatických inklúzií, tzv. Babes-Negriho teliesok, ktoré sú pre besnotu patognomické (Babes, 1892; Negri, 1903). Metóda detekcie BNT v otlákových preparátoch sa vyznačuje nízkou diagnostickou efektívnosťou a príprava histologických parafinových rezov je pracná. Diagnostický význam má len pozitívna detekcia BNT, ich absencia besnotu nevyučuje.

V súčasnosti sa v diagnostike besnoty na detekciu pôvodcu a jeho detailnú identifikáciu využívajú *molekulovo-genetické metódy*: RT-PCR, RFLP a iné; pre identifikáciu uličných kmeňov vírusu besnoty a ďalších lyssavírusov tiež monoklonové protilátky.

Metódy na detekciu a kvantifikáciu antirabických protilátok

Sérologická diagnostika je založená na dôkaze špecifických protilátok v krvnom sére pacienta, resp. v cerebrospinálnom moku, alebo v pleurálnom transsudáte, ktoré vznikli ako odpoveď na styk s vírusovým antigénom. Pre detekciu a kvantifikáciu antirabických protilátok boli vypracované a štandardizované viaceré *in vivo* a *in vitro* metodické postupy: *vírusneutralizačný test (VNT) na myšiach* a jeho *in vitro* alternatíva – *rýchly fluorescenčný fokus inhibičný test (RFFIT)*.

VNT - Vírusneutralizačný test, (Virus neutralisation test in mice)

Pomocou VNT je možné stanoviť titre antirabických protilátok v sére alebo v iných telových tekutinách. Podstatou VNT je neutralizácia konštantnej koncentrácie, resp. množstva rabického vírusu premennou koncentráciou antirabických protilátok v postupne riedenom inaktivovanom sére, resp. v ďalších telových tekutinách. Zmes vírus+sérum sa následne inokuluje i.c. myšiam. Doba pozorovania inokulovaných myší je 28 dní. Tento test je časovo náročný, drahý, v súčasnosti neetický a nepraktický pre rutinné použitie vo virologických laboratóriách; postupne je nahradzovaný lacnejšími a rýchlejšími *in vitro* metódami.

RFFIT – rýchly fluorescenčný fokus inhibičný test (Rapid fluorescent focus inhibition test)

Je založený na rovnakom princípe ako VNT na myšiach, má približne rovnakú senzitivitu ako VNT na myšiach, umožňuje detekciu a kvantifikáciu antirabických, skutočne neutralizujúcich protilátok. Veľmi dôležité je v teste použiť pozitívnu a negatívnu kontrolu a referenčné sérum so známym titrom protilátok (Bourhy a Sureau, 1991). Ako bunková kultúra sa obyčajne používa línia BHK-21. Výsledky RFFIT sú vyjadrované v medzinárodných jednotkách IU/cm³ (IU-international units).

FAVNT – Fluorescenčný vírusneutralizačný test (Fluorescent antibody virusneutralisation test)

Je modifikáciou RFFIT testu, ktorý sa v súčasnosti využíva na detekciu antirabických protilátok v sérach cieľových druhov zvierat, predovšetkým psov, mačiek a tiež ľudí. Princíp FAVN testu je rovnaký ako u RFFIT testu, s tým rozdielom, že pokiaľ pri RFFIT sa vyšetruje každá vzorka dvojmo, pri FAVN teste sa každá vzorka vyšetruje štvormo (Cliquet a kol., 2000). Veľkou výhodou FAVNT je eliminácia chyby štvornásobným vyšetrením tej istej vzorky a tiež odčítavanie výsledku metódou všetko alebo nič. Hodnotí sa len prítomnosť alebo neprítomnosť vírusu v jamke, resp. fluoreskujúceho komplexu. Titer antirabických protilátok vo vzorke séra sa vypočíta metódou podľa Spaermana a Karbmana. Titer sa udáva v IU/cm³

ELISA – enzýmová imunoanalýza, (enzyme linked immunosorbent assay)

Je v súčasnosti jednou z najpoužívanejších metód v diagnostike infekčných chorôb. Výsledky sú vyjadrované v ekvivalentných jednotkách (EU - equivalent units).

2.5 Prevencia a tlmenie besnoty

Besnota je choroba, ktorá prebieha nevyhnutne smrteľne a nemožno ju zatiaľ ovplyvniť terapeuticky. Pri súčasnom stave poznania jedinou možnou cestou, ako výskyt besnoty minimalizovať je dôsledná komplexná prevencia a imunoprofylaxia. Protinákazové opatrenia sa zameriavajú hlavne na likvidáciu prameňov nákazy a preventívnu antirabickú vakcináciu domácich a voľne žijúcich mäsožravcov.

Prevencia a tlmenie besnoty zvierat má dominantné postavenie v činnosti veterinárnej služby v jednotlivých štátoch. Opatrenia sú komplexné a mimoriadne nákladné. V komplexe antirabických opatrení rozhodujúci význam má imunoprofylaxia, zameraná na vytvorenie postvakcinačnej imunity u rozhodujúcej, epizootologicky najvýznamnejšej časti vnímavej populácie rezervoárových druhov. V strednej a západnej Európe, vrátane územia nášho štátu, najväčší význam v ekológii rabického vírusu a v epizootológii besnoty má líška hrdzavá. Je rozhodujúcim rezervoárovým druhom, preto ofenzívne protinákazové opatrenia sú smerované na riešenie tohto problému – prevencie a tlmenia líšcej besnoty (Tabuľka č. 3). Cieľom týchto opatrení je veľkoplošná eliminácia choroby alebo zabránenie rozšírenia do oblastí bez výskytu nákazy. Jedinou perspektívnou metódou prevencie a tlmenia besnoty voľne žijúcich zvierat je orálna vakcinácia (Wandeler, 1991).

Tabuľka č.3, Schéma antirabických opatrení

A. DOMÁCE ZVIERATÁ

- Evidencia psov a mačiek (nie je úplná)
- Likvidácia túlavých psov a mačiek domácich (nedôslednosť)

Profylaktická antirabická vakcinácia psov a mačiek domácich na území celého štátu, **hospodárskych zvierat** v zamorených oblastiach. V rozvojových štátoch orálna imunizácia psov a mačiek domácich (pokusne)

B. VOĽNE ŽIJÚCE ZVIERATÁ

Znižovanie populačnej denzity rezervoárových druhov zvierat, zvlášť líšok hrdzavých (málo efektívne a neetické metódy, toho času nevykonávané):

Orálna vakcinácia líšok obyčajných (i ďalších rezervoárových druhov):

- technicky možná
 - efektívna
 - ekologicky nezávadná
 - ekonomicky dostupná
-

SURVEILLANCE – OSVETA – DIAGNOSTIKA

Zdroj: (Švrček, 1992b)

V komplexe preventívnych a zdoľavacích antirabických opatrení rozhodujúci význam má imunoprofylaxia. Vo veterinárnej medicíne sa vykonáva len preexpozičná aktívna imunizácia.

Na území nášho štátu sa všetky psy domáce staršie ako 3-mesiace povinne trvale udržujú v imunite proti besnote. Podiel vakcinovaných mačiek domácich je veľmi nízky pre nedoriešenosť administratívno-organizačných otázok. Ako ukázala skúsenosť viacerých ekonomicky vyspelých európskych štátov, v prevencii a tlmení silvatickej epizootologickej formy besnoty má nezastupiteľné miesto orálna antirabická vakcinácia voľne žijúcich zvierat.

2.6 Orálna antirabická vakcinácia líšok v Slovenskej republike

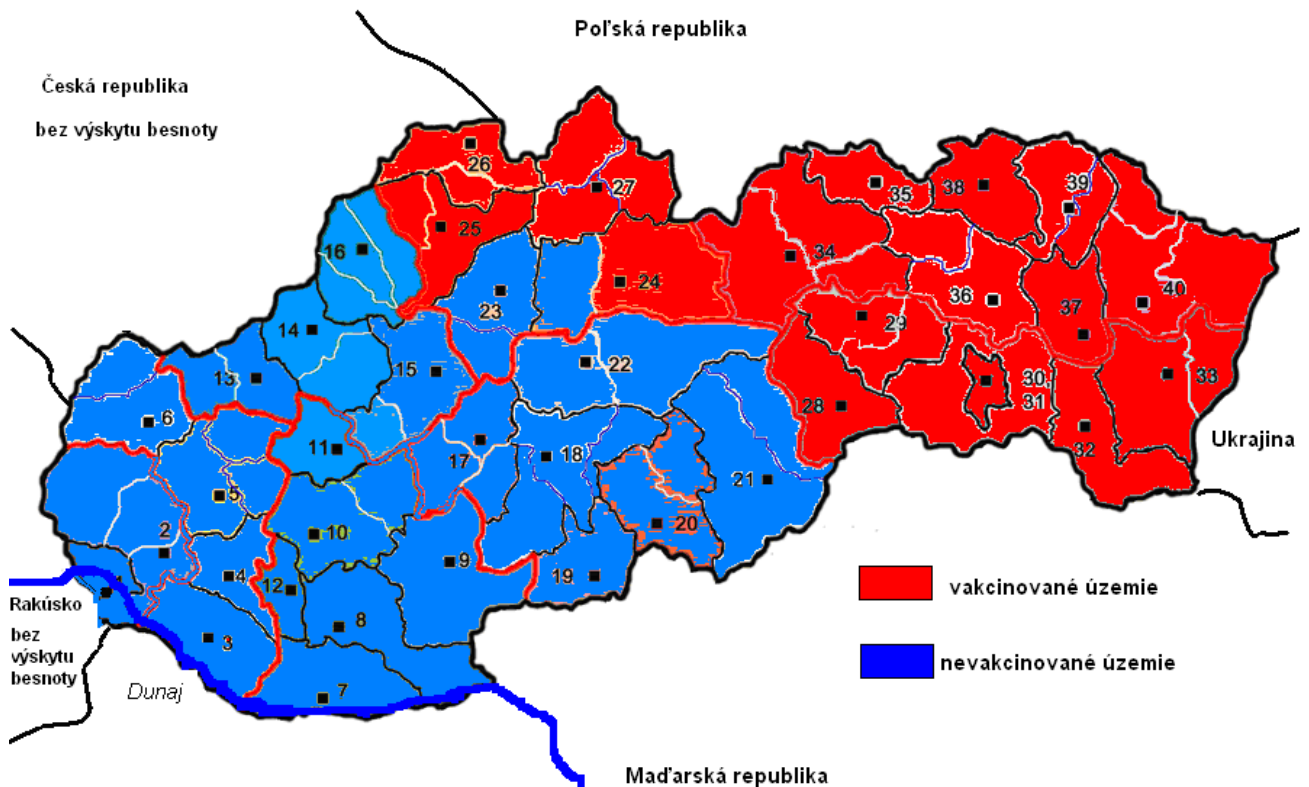
Slovensko patrí medzi krajiny s dosť nevýhodnou polohou na vykonávanie orálnej antirabической vakcinácie líšok. V súčasnosti bezpečná je len hranica s Rakúskom a s Českou republikou, nebezpečie zavlečenia nákazy je stále pozdĺž hranice s Maďarskom, Poľskom a Ukrajinou.

Na základe rozhodnutia ŠVS SR v Bratislave bola v rokoch 1992 a 1993 v dvoch etapách (jar a jeseň) vykonaná na vybranej časti územia nášho štátu orálna antirabická vakcinácia líšok obyčajných, na jej základe bola vypracovaná koncepcia plošnej vakcinácie na celom území SR v rokoch 1994-1996. V rokoch 1997-1999 sa orálna antirabická vakcinácia vykonávala len na určitom obmedzenom území Slovenska, v roku 1999 bol pripravený trojročný program orálnej antirabической vakcinácie pre roky 2000-2002.

Od roku 2003 bol vypracovaný a schválený Národný program eradikácie besnoty v Slovenskej republike, ktorého cieľom je eliminácia choroby na území SR za účelom zlepšenia nákazovej situácie u voľne žijúcich a domácich zvierat, zabránenia prenosu besnoty na domáce zvieratá a ľudí, odstránenie bariér pri premiestňovaní mäsožravcov a iných vnímavých druhov zvierat a tiež minimalizácie finančných výdavkov štátu. Vďaka dobrej epizootologickej situácii v susedných štátoch (Česká republika a Rakúsko - krajiny bez výskytu besnoty) a tiež na území SR sa celoplošná antirabická vakcinácia líšok nevykonáva od jesennej kampane 2009. Do vakcinačnej zóny neboli zahrnuté územia celého Trenčianskeho kraja a okresov Bratislava I – IV, Senec, Pezinok, Malacky, Trnava, Hlohovec, Piešťany, Senica a Topoľčany. K ďalšej redukcii vakcinačného územia došlo v roku 2011 o okresy Bratislava V., Dunajská Streda, Galanta, Komárno, Nové Zámky, Nitra, Zlaté Moravce, Levice, Šaľa, Žiar nad Hronom, Žarnovica, Banská Štiavnica, Zvolen, Detva,

Krupina, Veľký Krtíš, Banská Bystrica, Brezno, Lučenec, Poltár, Rimavská Sobota, Revúca, Martin a Turčianske Teplice (Obrázok č. 1).

Obrázok č.1, Vakcinačné územie vykonávania orálnej antirabickej vakcinácie líšok hrdzavých od jarnej kampane 2011



Zdroj: Štátna veterinárna a potravinová správa SR (2011)

Kontrola účinnosti orálnej antirabickej vakcinácie sa vykonáva podľa metodických pokynov ŠVPS SR, kde sú o.i. uvedené kontrolné vyšetrenia za účelom vykonávania pravidelnej kontroly účinnosti orálnej antirabickej vakcinácie (ŠVPS SR, 2000-2011). Kontrola účinnosti je zameraná nielen na vakcínu ale aj na návnadu, pretože nielen vakcína ale aj návnada použitá pre orálnu imunizáciu voľne žijúcich zvierat musí spĺňať celý rad požiadaviek (Wandeler, 1991; Ďurove a kol.,1996).

Jedným z prvých terénnych kontrolných vyšetrení je kontrola akceptácie vakcinačných návnad, ktorá sa vykonáva na 3., 8. a 14. deň po ručnom rozložení vakcinačných návnad na

kontrolnej ploche. Príjem väčšiny rozložených návnad cieľovými druhmi – líškami v priebehu 3-5 dní svedčí o atraktivnosti použitej návnady.

Nedeliteľnou súčasťou potvrdenia efektivity a kvality vykonania orálnej antirabickej vakcinácie je komplex laboratórnych vyšetrení; podmienený v prvom rade kontrolným odstrelom mladých líšok vo vakcinačnej zóne v intervale 25 - 45, resp. 45 - 90 dní po vykonaní orálnej antirabickej vakcinácie (Švrček, 1992; ŠVPS SR 2000-2011). Predpokladá sa odlovenie a dodanie minimálne jednej líšky na 10 km² vakcinačnej zóny; najmenej však 1 líšku z každého poľovného združenia (Ďurove a kol.,1996).

U každej ulovenej líšky sa vykoná: detekcia rabického antigénu, detekcia antirabických protilátok, detekcia biomarkéru – tetracyklínu; v prípade pozitívnych prípadov identifikácia izolovaných uličných rabických kmeňov.

2.7 Vývoj epizootologickej situácie v besnote v jednotlivých štátoch Európy

Súčasná epizootologická situácia vo výskyte besnoty v jednotlivých štátoch Európy úzko súvisí s vykonávaním, resp. nevykonávaním orálnej antirabickej vakcinácie. Podľa odporúčaní WHO a OIE, orálna antirabická vakcinácia voľne žijúcich líšok hrdzavých má nezastupiteľný význam pri tmení líškej besnoty. Je perspektívnym – ofenzívnym, efektívnym, ekologicky neškodným, ekonomicky a technicky zvládnuteľným preventívnym opatrením.

Švajčiarsko bolo prvou európskou krajinou, kde sa v roku 1978 začala vykonávať orálna antirabická vakcinácia, kde sa za niekoľko rokov potvrdila opodstatnenosť využitia tejto metódy v terénnych podmienkach. Bol to mimoriadny úspech vzhľadom k množstvu v tom čase ešte nevyjasnených problémov, napr. reziduálnej virulencie použitého vakcinačného kmeňa vírusu besnoty. Priekopníci metódy orálnej antirabickej vakcinácie, ako aj celé vedecké tímy tvrdia, že v súčasnosti získanie povolení, resp. schválení umožňujúcich vykonanie podobnej akcie by bolo ťažko dosažiteľné (Wandeler, 2000). Vývoj účinnej, bezpečnej a atraktívnej vakcíny, správna stratégia rozloženia vakcinačných návnad boli základnou podmienkou pre úspešný začiatok orálnej antirabickej vakcinácie (Kappeler a Wandeler, 2000). V rokoch 2002-2003 boli zaznamenané posledné prípady výskytu besnoty, resp. v roku 2002 jeden prípad besnote podobnej lyssavírusovej infekcie u netopiera a v roku 2003 besnota u psa. Besnota u voľne žijúcich zvierat sa v rokoch 2000-2010 na

území Švajčiarska a Lichtenštajnska nevyskytla (Rabies-Bulletin-Europe, 2010). V súlade s požiadavkami WHO je Švajčiarsko považované za krajinu bez výskytu besnoty.

Nemecko bolo druhou krajinou v Európe, kde sa začala vykonávať orálna antirabická vakcinácia líšok. V roku 1985 bola vyvinutá priemyselne vyrábaná vakcinačná návnada z kmeňa SAD B19, ktorá sa používa dodnes (Schneider a Cox, 1983).

Besnota je na území Nemecka diagnostikovaná každoročne. V roku 2008 bola besnota a besnote podobné lyssavírusové infekcie na území Nemecka diagnostikované v 11 prípadoch, z toho besnota u 1 domáceho zvierat'a, 10 besnote podobných lyssavírusových infekcií u netopierov. V roku 2009 nebola besnota potvrdená u domácich ani u voľne žijúcich zvierat. Diagnostikované boli však 3 prípady besnote podobných lyssavírusových infekcií u netopierov (Rabies-Bulletin-Europe, 2009). V roku 2010 bola besnota na území SRN diagnostikovaná v 6 prípadoch (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

V roku 1984 sa na území **Talianska** začala vykonávať orálna antirabická vakcinácia líšok tübingenskou vakcinačnou návnadou z kmeňa SAD B19. Nasledujúce roky sa vykonávala núdzová orálna antirabická vakcinácia len v oblastiach výskytu besnoty (Mutinelli, 2002). V roku 1992 bol vypracovaný nový metodický program orálnej antirabickej vakcinácie, ktorým sa podarilo eliminovať besnotu na území Talianska (Aubert a kol., 1994). Posledný prípad výskytu besnoty na území Talianska bol zaregistrovaný v roku 1996 u človeka, u zvierat to bol v roku 1995 1 prípad u psa a 10 prípadov u voľne žijúcich zvierat, z toho 8 u líšok (Rabies-Bulletin-Europe, 2007). Až v roku 2008 bola besnota na území Talianska potvrdená u 9 voľne žijúcich zvierat, z toho 8 u líšok a 1 u jazveca. K zvýšeniu počtu prípadov výskytu besnoty došlo v roku 2009, kedy bola diagnostikovaná u 1 psa, 18 líšok, 1 jazveca a 1 srnca (Rabies-Bulletin-Europe, 2008-2009). Ku zvýšenej incidencii besnoty však došlo v roku 2010, keď bola táto choroba potvrdená v 209 prípadoch (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

Orálna antirabická vakcinácia v **Belgicku** sa začala vykonávať v roku 1986. V prvých rokoch sa používala orálna antirabická vakcína z kmeňa SAD B19, v rokoch 1988-1990 sa súčasne v teréne rozkladali vakcinačné návnady s rekombinantnou vakcínou V-RG (Pastoret a kol., 1988; Brochier a kol., 1990; 1991).

Belgicko bolo prvou krajinou kde sa rekombinantná vakcína V-RG začala používať (Boulangier a kol., 1996). Od roku 1991 sa na území Belgicka využíva len vakcína V-RG (Aubert a kol., 1994). Na vykonávanie orálnej antirabickej vakcinácie má Belgicko výhodnú polohu, západná prímorská časť krajiny je úplne chránená morom. Orálnou antirabickou

vakcináciou bola nákaza postupne vytláčaná jedným smerom, pomocou tzv. nárazníkového pásu širokého približne 30, resp. 50-70 km v závislosti od reliéfu krajiny (Coppens a kol., 1992).

Ostatný prípad besnoty u líšky bol zaznamenaný v roku 1998 a vôbec posledný prípad besnoty v Belgicku bol zaregistrovaný u dobytka v roku 1999. V roku 2007 bola besnota potvrdená u 1 importovaného psa (Rabies-Bulletin-Europe, 2007). Podľa údajov WHO je Belgicko spolu s Luxemburskom od roku 2001 považované za krajinu bez výskytu besnoty (Brochier a kol., 2001). Besnota sa na území Belgicka nevyskytla ani v priebehu roka 2010 (Rabies-Bulletin-Europe, 2010)

V **Luxembursku**, vzhľadom k jeho rozlohe, orálna antirabická vakcinácia sa začala vykonávať spolu so susednými štátmi v roku 1986, vakcínou SAD B19 (Frisch a kol., 1987). Od roku 1988 sa využíva len rekombinantná vakcína V-RG. Posledný prípad besnoty bol zaznamenaný v roku 1999 (Vos a kol., 2000). Luxembursko je považované za krajinu bez výskytu besnoty. V roku 2010 nebol v Luxembursku diagnostikovaný žiadny pozitívny prípad besnoty (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

Orálna antirabická vakcinácia vo **Francúzsku** sa začala vykonávať v roku 1986 spolu s Belgickom a Luxemburskom v rámci spoločne koordinovaného vakcinačného programu. Na území Francúzska boli použité tri orálne antirabické vakcíny; klasická konvenčná vakcína z kmeňa SAD B19, rekombinantná vakcína V-RG a vakcína francúzskej proveniencie z avirulentného mutantu SAG1, ktorá bola neskôr nahradená vakcínou tiež z avirulentného mutantu SAG2 (Artois a kol., 1993; Masson a kol., 1994; Masson a kol., 1996).

V 90-tych rokoch došlo k výraznému zlepšeniu epizootologickej situácie v besnote. Francúzsku sa podarilo ku koncu deväťdesiatych rokov udržať si status krajiny bez výskytu besnoty hlavne vďaka rýchlej diagnostike; napr. aj v prípade besnoty u importovaného psa zo severnej Afriky (Bruyere-Masson a kol., 2001).

Od roku 2000 však bola besnota a besnote podobné lyssavírusové infekcie každoročne diagnostikované až do roku 2006 u psov a netopierov (Rabies-Bulletin-Europe, 2006). V roku 2007 bol potvrdený 1 prípad besnoty u mačky a 3 prípady besnote podobných lyssavírusových infekcií u netopierov, v roku 2008 výskyt u 3 psov a 5 netopierov a v roku 2009 u 1 psa a 11 netopierov (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2009). V roku 2010 bola besnota vo Francúzsku potvrdená v 6 prípadoch.

V roku 1986 sa začala vykonávať orálna antirabická vakcinácia aj na území **Rakúska**. Použitá bola vakcína z vakcinačného kmeňa B19. Epizootologická situácia vo výskyte

besnoty na území Rakúska je vo veľkej miere závislá od nákazovej situácie susedných štátov (Gram, 1995).

Orálnou antirabickou vakcináciou sa podarilo výrazne znížiť výskyt besnoty, avšak zatiaľ sa nepodarilo besnotu na území Rakúska eliminovať. V roku 2002 bola besnota diagnostikovaná v pohraničných oblastiach (24 prípadov v ohnisku na hranici so Slovinskom, z toho 19 u líšok). V rokoch 2003-2006 s výnimkou v roku 2005 bola besnota diagnostikovaná na území Rakúska každoročne jedenkrát. V roku 2003 u koňa, v rokoch 2004 a 2006 u líšky (Rabies-Bulletin-Europe, 2003-2006). Od roku 2006 nebola besnota na území Rakúska potvrdená (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2010).

Fínsko patrilo medzi krajiny bez výskytu besnoty od roku 1998. Prvý pozitívny prípad besnoty bol diagnostikovaný v roku 1988 u psíka medviedikovitého (*Nyctereutes procyonoides*), ktorý je tamojším hlavným rezervoárovým druhom. Okamžite a nesmierne operatívne sa začala vykonávať orálna antirabická vakcinácia; použitý bol vakcinačný vírus SAD B19 (Nyberg a kol., 1992).

Z európskych štátov práve na území Fínska bolo potvrdené, že orálnou antirabickou vakcináciou je možné imunizovať aj iný druh voľne žijúceho karnivora – psíka medviedikovitého. Aj keď besnota bola eliminovaná v priebehu 2 rokov, naďalej pozdĺž hranice s Ruskom sa vykonáva orálna antirabická vakcinácia (Nyberg a kol., 1992). V rokoch 2000-2009 bola diagnostikovaná besnota u 1 koňa v roku 2003 a 1 besnote podobná lyssavírusová infekcia u netopiera v roku 2009 (Rabies-Bulletin-Europe, 2000-2009). V roku 2010 nebola besnota na území Fínska potvrdená (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

V **Holandsku** sa orálna antirabická vakcinácia vykonávala od roku 1988, kedy sa vyskytli prvé prípady besnoty v pohraničnej oblasti s Nemeckom a Belgickom (Aubert a kol., 1994). Na území Holandska sa v roku 2001 vyskytla besnota u 2 voľne žijúcich zvierat, okrem toho je od roku 1989 registrovaná len besnote podobná lyssavírusová infekcia u netopierov (Vos a kol., 2000). V rokoch 2000-2009 bola potvrdená u 76 netopierov (Rabies-Bulletin-Europe, 2000-2009). V roku 2010 bola táto choroba potvrdená v 7 prípadoch (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

Na území **Slovinska** sa líšky začali orálne vakcinovať v roku 1988, vakcínou z kmeňa SAD B19 (Curk a Carpenter, 1994). V roku 1998 bola použitá vakcína Lysvulpen z vakcinačného kmeňa SAD Bern. Slovinsko vykonáva orálnu antirabickú vakcináciu nepretržite v pohraničnej oblasti s Chorvátskom, s cieľom vytvoriť dostatočne široké ochranné územie.

Besnota u domácich zvierat bola na území Slovinska naposledy diagnostikovaná v roku 2001. Od roku 2002 sa vyskytla iba u voľne žijúcich zvierat. V roku 2002 to bolo 15 prípadov (z toho 14 líšok), v roku 2003 u 8 líšok, v roku 2004 u 2 líšok a v roku 2005 u 3 líšok. V priebehu roka 2006 nebola besnota diagnostikovaná u žiadneho zvierat'a (Rabies-Bulletin-Europe, 2006). V roku 2007 sa vyskytla u 3 líšok, v roku 2008 u 53 líšok, 2 jazvecov a 2 domácich zvierat (kôň a pes). V roku 2009 bolo na území Slovinska zaznamenaných 22 prípadov besnoty, z toho 21 u líšok a 1 u dobytky a v roku 2010 bolo potvrdených 12 prípadov (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2010).

Maďarsko bolo prvým štátom na Európskom kontinente, kde sa na konci 30-tych rokov minulého storočia po zavedení povinnej vakcinácie psov proti besnote podarilo utlmiť, resp. eliminovať urbánnu formu besnoty.

Orálna antirabická vakcinácia sa začala vykonávať len na obmedzenom území v roku 1992, použitá bola vakcína SAD B19. V roku 1998 a 1999 bola okrem vakcíny SAD B19 použitá aj vakcína SAG1 a v roku 2000 aj vakcína SAD P5/88 (Bone, 2000). Vykonávanie orálnej antirabickej vakcinácie je náročné, nakoľko Maďarsko z väčšej časti hraničí so štátmi, ktoré ešte vôbec nezačali s vakcinačným programom, alebo orálnu vakcináciu vykonávajú len v obmedzenom rozsahu (Chorvátsko, Juhoslávia, Rumunsko, Ukrajina) (Müller a kol., 1995).

V rokoch 2000-2006 bola besnota na území Maďarska diagnostikovaná u 1291 zvierat, z toho bolo 280 domácich a 1011 voľne žijúcich. K výraznému poklesu incidencie vo výskyte tejto choroby došlo na prelome rokov 2004 a 2005, kedy bola besnota diagnostikovaná z pôvodných 125 prípadov (v r. 2004) na 9 prípadov (v r. 2005), resp. 1 pozitívne voľne žijúce zviera v roku 2006 (Rabies-Bulletin-Europe, 2006). V roku 2007 bola besnota diagnostikovaná u 1 mačky a 3 líšok. V roku 2008 bola na území Maďarska potvrdená besnota v 7 prípadoch (1 pes, 6 líšok). V roku 2009 bola u 1 líšky potvrdená besnota a u 1 netopiera iná besnote podobná lyssavírusová infekcia (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2009). V roku 2010 bolo potvrdených 11 prípadov besnoty (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

Územie **Poľska** sa začalo vakcinovať použitím orálnej vakcinácie proti besnote v roku 1993, použitá bola orálna vakcína z kmeňa SAD B19. V priebehu 90-tych rokov bolo diagnostikovaných v Poľsku takmer 21.000 prípadov besnoty, z nich viac ako 81 % u voľne žijúcich zvierat a takmer 68 % u líšok. Po rokoch (1997-1999) relatívneho zlepšenia nákazovej situácie v Poľsku došlo v rokoch 2000 a 2001 k nárastu počtu pozitívnych prípadov besnoty. V ostatnom období sa orálna antirabická vakcinácia vykonáva na celom území Poľska (Zmudzinski a Smreczak, 2000). Z celkového počtu 7083 pozitívnych zvierat

diagnostikovaných na besnotu v rozpätí rokov 2000-2006 v Poľsku bolo 1025 domácich, 6008 voľne žijúcich a 50 prípadov predstavovala besnote podobná lyssavírusová infekcia netopierov (Rabies-Bulletin-Europe, 2000-2006). V roku 2007 bolo laboratórne potvrdených 67 prípadov besnoty. Z tohto počtu bolo 15 u domácich zvierat, 52 u voľne žijúcich (42 u líšok, 7 u psíka medvedikovitého a 3 u iných voľne žijúcich zvierat). Okrem 67 pozitívnych zvierat na besnotu bola v roku 2007 diagnostikovaná iná besnote podobná lyssavírusová infekcia u 3 netopierov. V roku 2008 bol počet prípadov besnoty 26 (5 u domácich zvierat, 21 u voľne žijúcich, z toho 19 u líšok a dva u psíka medvedikovitého). Besnote podobná lyssavírusová infekcia bola diagnostikovaná u 3 netopierov. V roku 2009 bol zaznamenaný pokles incidencie besnoty. Vyskytla sa iba u 6 líšok; u dvoch netopierov bola potvrdená besnote podobná lyssavírusová infekcia (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2009). K zvýšeniu incidencie a zhoršeniu epizootologickej situácie vo výskyte besnoty na území Poľska došlo v roku 2010, kedy bola táto choroba potvrdená v 151 prípadoch (Rabies-Bulletin-Europe, 2010).

V **Českej republike** na území niekoľkých okresov (pozdĺž hranice s Nemeckom) sa začala v roku 1989 vykonávať orálna antirabická vakcinácia; použitá bola orálna antirabická vakcína z kmeňa SAD B19. Od jesene roku 1992 sa používajú vakcinačné návnady s atenuovaným kmeňom SAD Bern.

Súčasná epizootologická situácia v besnote je priaznivá. V roku 2002 boli diagnostikované len 3 pozitívne líšky na celom území Českej republiky (Matouch a Vitásek, 2002a; 2002b). V rokoch 2003-2006 nebola besnota diagnostikovaná ani u domácich, ani u voľne žijúcich zvierat s výnimkou jednej besnote podobnej lyssavírusovej infekcie u netopiera v roku 2005 (Rabies-Bulletin-Europe, 2003-2006). V rokoch 2007-2010 sa na území Českej republiky besnota nevyskytla (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2010).

Česká republika vykonáva orálnu vakcináciu líšok proti besnote v protektívnej zóne v pohraničí s Poľskom a Slovenskou republikou (Matouch a kol., 2007).

2.8 Vývoj epizootologickej situácie v besnote na Slovensku

Prvé prípady besnoty na území **Slovenskej republiky** boli zistené koncom 19. storočia, bola to hlavne besnota u psov a mačiek, prípadne iných druhov domácich zvierat. Dôkazom toho, že pred 2. svetovou vojnou sa na území Slovenska vyskytovala urbánna forma

besnoty, je vysoký počet expozícií ľudí besnými psami, ktorí boli ošetrení na Pasteurovom ústave Štátnej nemocnice v Košiciach (zdokumentované v prácach MUDr. Václava Strimpla).

V prvej polovici 20. storočia na Slovensku neboli diagnostikované takmer žiadne pozitívne prípady besnoty u voľne žijúcich zvierat; zo všetkých zaznamenaných pozitívnych prípadov besnoty tvorili psy takmer 90 %. Alarmujúci bol tiež výskyt besnoty u ľudí; v období rokov 1919 až 1937, kedy v bývalom Československu zomrelo na besnotu 132 ľudí a u 25.000 ľudí bola vykonaná postexpozičná vakcinácia. Po druhej svetovej vojne sa nákazová situácia podstatne zmenila. S dobrovoľnou imunizáciou psov proti besnote sa začalo v roku 1927, povinnou sa stala až po roku 1953.

Postupne besnotu domácich mäsožravcov (psov) vystriedala besnota voľne žijúcich mäsožravých šeliem (líška a vlk). Potvrzuje to aj výskyt besnoty u jednotlivých druhov zvierat, pokiaľ v rokoch 1921-1943 z celkového počtu laboratórne pozitívnych prípadov besnoty na Slovensku predstavovali psy 89,3 %, voľne žijúce zvieratá len 0,04 %. Od roku 1945 do roku 1960 sa na Slovensku vyskytovali len ojedinelé prípady besnoty u líšok a z domácich zvierat u psov; z celkového počtu psy tvorili len 9 % a voľne žijúce zvieratá 80,1 %, z nich tvorili líšky 93,3 % (Ursíny a Stolzová-Sutorisová.,1970).

K zhoršeniu epizootologickej situácie došlo až od druhej polovice 60-tych rokov minulého storočia; v roku 1968 bolo hlásených viac ako 300 pozitívnych prípadov. Počet pozitívnych prípadov besnoty neustále narastal až do konca 80 rokov. Za ostatných 25 rokov na Slovensku bolo registrovaných 6.882 prípadov besnoty zvierat a 2 prípady lyssavírusových infekcií u netopierov (Švrček a kol., 2001). Ostatný prípad besnoty človeka bol na území Slovenska zaznamenaný v roku 1990 (Švrček a kol., 1999). Všetky opatrenia, ktoré sa prijímali v priebehu 70-tych a 80-tych rokov a boli nasmerované na zníženie populačnej denzity líšok, hlavného rezervoára besnoty, sa ukázali ako neefektívne (vyplácanie zástrelného v roku 1969, plynovanie líščích brlohov v rokoch 1979-1984, trávenie líšok strychnínovými návnadami, sterilizácia líšok pomocou návnad). Jednou z účinných metód prevencie a tlmenia besnoty voľne žijúcich zvierat je orálna antirabická vakcinácia líšok, ktorá sa na Slovensku začala vykonávať v roku 1993 (Švrček, 1992a; Švrček a kol., 1995).

V roku 1999 bola besnota diagnostikovaná u 503 zvierat, z čoho 83 boli domáce zvieratá (16,5%) a 420 voľne žijúce zvieratá (83,5%). Najvyšší podiel na výskyte besnoty predstavovali líšky hrdzavé s potvrdenou pozitivitou u 392 kusov (77,9%) (Tabuľka č.4).

V roku 2000 bola besnota diagnostikovaná u 351 zvierat, z čoho 71 boli domáce zvieratá (20,2%) a 280 voľne žijúce zvieratá (79,8%). Najvyšší podiel na výskyte besnoty predstavovali líšky hrdzavé s potvrdenou pozitivitou u 267 kusov (76,0%) (Tabuľka č..5).

V roku 2001 sa besnota potvrdila u 87 zvierat. Z tohto počtu bolo domácich zvierat 12 (13,8%) a voľne žijúcich 75 (86,2%). Obdobne i v tomto roku najvyšší podiel na výskyte besnoty mali líšky hrdzavé – 70 pozitívnych líšok (80,4%).

V roku 2002 a následne i v roku 2003 došlo k zvýšeniu počtu pozitívnych prípadov besnoty. V roku 2002 bola besnota diagnostikovaná u 113 zvierat. Z nich 19 bolo domácich (16,8%) a 94 voľne žijúcich (83,2%). Podiel líšky hrdzavej na celkovom výskyte besnoty v tomto roku bol 79,6% (90 pozitívnych kusov). O rok neskôr bola besnota potvrdená až u 326 zvierat, z čoho 42 boli domáce (12,9%) a 284 voľne žijúce (87,1%). Besnota u líšok bola diagnostikovaná v roku 2003 u 247 kusov (75,8%).

V roku 2004 bola besnota diagnostikovaná u 64 zvierat, z čoho 4 boli domáce (6,2%) a 60 voľne žijúce (93,8%). U líšok bola diagnostikovaná v 54 prípadoch (84,4%).

V roku 2005 bola diagnostikovaná u 50 zvierat, z čoho 4 boli domáce (8,0%) a 46 voľne žijúce (92,0%). I v tomto roku bol podiel líšky hrdzavej na celkovom výskyte besnoty najvyšší – 44 pozitívnych líšok (88,0%).

V roku 2006 bola besnota diagnostikovaná u 4 voľne žijúcich zvierat, pričom všetko boli líšky hrdzavé (Rabies-Bulletin-Europe, 2006). Rok 2007 bol prvým rokom, kedy na území Slovenskej republiky nebola diagnostikovaná besnota u domácich a voľne žijúcich zvierat. Ani v priebehu rokov 2008, 2009, 2010 až do súčasného obdobia /september 2011/ nebol na území Slovenskej republiky potvrdený žiadny prípad besnoty (Rabies-Bulletin-Europe, 2007-2010, Mesačný výkaz o výskyte nakažlivých chorôb zvierat ŠVPS SR, august 2011).

Tabuľka č.4, Výskyt besnoty u domácich a voľne žijúcich zvierat na území Slovenskej republiky v rokoch 1993 – 1999

Rok	Domáce zvieratá		Voľne žijúce zvieratá				Spolu
	spolu	%	líšky	%	spolu	%	
1993	80	16.4	393	80.4	409	83.6	489
1994	113	20.0	428	75.8	452	80.0	565
1995	62	23.3	197	74.0	204	76.7	266
1996	73	21.2	256	74.2	272	78.8	345
1997	52	20.0	198	76.4	207	80.0	259
1998	67	16.2	336	81.2	347	83.8	414
1999	83	16.5	392	77.9	420	83.5	503
Spolu	530	18.7	2 200	77.4	2 311	81.3	2 841

Zdroj: Štátna veterinárna správa SR, vlastná

Tabuľka č. 5, Výskyt besnoty u domácich a voľne žijúcich zvierat na území Slovenskej republiky v rokoch 2000 – 2010

Rok	Domáce zvieratá		Voľne žijúce zvieratá				Spolu
	spolu	%	líšky	%	spolu	%	
2000	70	18.7	292	77.9	305	81.3	375
2001	11	12.6	72	82.8	76	87.4	87
2002	17	14.9	94	82.5	97	85.1	114
2003	46	13.0	295	83.3	308	87.0	354
2004	4	6.2	54	84.4	60	93.8	64
2005	5	10.4	42	87.5	43	89.6	48
2006	0	0	4	100.0	4	100.0	4
2007	0	0	0	0	0	0	0
2008	0	0	0	0	0	0	0
2009	0	0	0	0	0	0	0
2010	0	0	0	0	0	0	0
Spolu	153	14.6	853	81.5	893	85.4	1046

Zdroj: Štátny veterinárny ústav Zvolen, vlastná

3 Záver

- V strednej a západnej Európe, vrátane územia Slovenskej republiky, najväčší význam v ekológii rabického vírusu a epizootológii besnoty má líška hrdzavá. Je rozhodujúcim rezervoárovým druhom pri silvatickej epizootologickej forme besnoty, preto ofenzívne protinákazové opatrenia boli a sú nasmerované na riešenie tohto problému.
- Ako jediná perspektívna metóda prevencie a tlmenia líščej besnoty sa na základe skúseností z iných štátov aj na Slovensku ukázala orálna antirabická vakcinácia líšok. Táto sa začala prvýkrát vykonávať na vybranej časti územia v roku 1992. V roku 1994 bol zahájený trojročný cyklus ručného pokladania vakcinačných návnad na celom území Slovenska až do roku 1996.
- Dôkladné monitorovanie výskytu besnoty a monitorovanie efektívnosti orálnej antirabической vakcinácie líšok sú dôležitým nástrojom pre hodnotenie a prípravu nasledujúcich vakcinačných kampaní. Štandardizácia metód dohľadu a monitorovania uľahčujú porovnanie efektívnosti v jednotlivých štátoch a spoluprácu.
- Dlhoročným vykonávaním orálnej vakcinácie líšok s následnou kontrolou jej účinnosti sa podarila veľkoplošná eliminácia choroby na celom území nášho štátu, na strane druhej jej vykonaním sa zvýšila populačná denzita líšok, čo vedie k zvýšenej prevalencii echinokokózy a trichinelózy.
- V európskych podmienkach sa potvrdilo, že orálna imunizácia líšok je úspešná, ak je stratégia jej vykonávania dlhodobá a zahŕňa aj spoluprácu so susednými štátmi.

4 Použitá literatura

AMENGUAL, B. – WHITBY, J.E. – KING, A. – COBO, J.S. – BOURHY, H.: Evolution of European bat lyssaviruses. *J. Gen. Virol.*, 78, (1997), 2319-2328.

ARTOIS, M. – MASSON, E. – BARRAT, J. – AUBERT, M.F.A.: Efficacy of three oral rabies vaccine-baits in the red fox: a comparison. *Vet. Microbiol.*, 38, (1993), 167-172.

AUBERT, M.F.A. – MASSON, E. – ARTOIS, M. – BARRAT, J.: Oral wildlife rabies vaccination field trials in Europe, with recent emphasis on France. *In: Rupprecht C.E. – Dietzschold B. – Koprowski H. (eds.): Lyssaviruses. Berlin-Springer, (1994), 219-243.*

BADRANE, H. – BAHLOUL, C. – PERRIN, P. – TORDO, N.: Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.*, 75, (2001), 3268-3276.

BENÍŠEK, Z. – ŠVRČEK, Š. – SELIMOV, M.A. – a kol.: Isolation of Lyssavirus Duvenhage strain from insectivorous bat in Slovakia and its identification by monoclonal antibodies. Seminar on Biotechnology in Veterinary Medicine. Abstracts, VÚVL Brno, (1991), 16-18.

BONE, B.: Rabies control in wildlife in Hungary. Report of the Seminar on „Rabies control in wildlife in the Candidate Countries“ Brussels, December, (2000).

BOULANGER, D. – CROUCH, A. – BROCHIER, B. – BENNETT, M. – CLEMENT, J. – GASKELL, R.M. – BAXBY, D. – PASTORET, P.P.: Serological survey for orthopoxvirus infection of wild mammals in areas where a recombinant rabies virus is used to vaccinate foxes. *Vet. Rec.*, 138, (1996), 247-249.

BOURHY, H. – SUREAU, P.: Laboratory methods for rabies diagnosis. Commission des Laboratoires de Référence et d'Expertise, Institut Pasteur, Paris, (1991), 197.

BOURHY, H. – KISSI, B. – LAFON, M. – SACRAMENTO, D. – TORDO, N.: Antigenic and molecular characterization of bat rabies virus in Europe. *J. Clin. Microbiol.*, 30, (1992), 2419-2426.

BOURHY, H. – KISSI, B. – TORDO, N.: Molecular diversity of the Lyssavirus genus. *Virology*, 194, (1), (1993), 70-81.

BOURHY, H. – KISSI, B. – AUDRY, L. – a kol.: Ecology and evolution of rabies virus in Europe. J. Gen. Virol., 80, (1999), 2545-2557.

BROCHIER, B. – THOMAS, I. – BAUDIN, B. – a kol.: Use of a vaccinia rabies recombinant virus for the oral vaccination of foxes against rabies. Vaccine, 8, (1990), 101-104.

BROCHIER, B. – LANGUET, B. – ARTOIS, M. – a kol.: Efficacy of a baiting system for vaccinating foxes against rabies with vaccinia-rabies recombinant virus. Vet. Rec., 127, (1991), 165-167.

BROCHIER, B. – DECHAMPS, P. – COSTY, F. – a kol.: Elimination of silvatic rabies in Belgium by oral vaccination of the red fox (*Vulpes vulpes*). Ann. Med. Vet., 145, (2001), 293-305.

BRUYÈRE-MASSON, V. – ARTHUR, L. – BARRAT, J. – CLIQUET, F.: Les données actuellement disponibles sur les populations de chiroptères autochtones, leur situation épidémiologique au regard de la rage. Bull. Épidémiol. Hebdom., 39, (2001), 191-192.

CLIQUET, F. — SAGNÉ, L. – SCHEREFFER, J. L. – AUBERT, M. F. A.: ELISA test for rabies antibody titration in orally vaccinated foxes sampled in the fields. Vaccine, 18, (2000), 2572-3279.

COPPENS, F. – BROCHIER, B. – COSTY, F. – a kol.: Rabies control in Belgium – 1991. Epidemiologic evaluation and further strategy. Ann. Med. Vet., 136, (1992), 129-135.

CURK, A. – CARPENTER, T.E.: Efficacy of the 1st oral vaccination against fox rabies in Slovenia. Rev. Scient. Techn. OIE, 13, (1994), 763-775.

ĎUROVE, A. – ŠVRČEK, Š. – SOKOL, J. – a kol.: Orale Immunisierung freilebender Rotfüchse gegen Tollwut in der Slowakei im Jahre 1994. Wien. Tierärztl. Mschr. 83, (1996), 158-163.

FRISCH, R. – WILFF, F. – KRIER, A. – BROCHIER, B. – SCHNEIDER, L.G.: 1st vaccination campaign of foxes against rabies by oral route in Grand-Duchy of Luxembourg. – Control of efficacy in the red fox (*Vulpes vulpes*). Ann. Med. Vet., 131, (1987), 449-456.

GRAM, G.: Summary of country reports – Austria. WHO Meeting on cooperation on oral immunization of foxes against rabies in 1995 (Central and Eastern Europe). Budapest (Hungary), 31.3.-1.4.1995.

IRVIN, A.D.: The epidemiology of wildlife animals. *Vet. Rec.*, 87, (1970), 333 – 348.

JOHNSON, H.N.: Rabies, In. Rivers T.M.: *Viral and Rickettsie Infections of Man*. Philadelphia, (1948), 213 – 242.

KAPPELER, A. – WANDELER, A.L.: Entwicklung von Strategien zur Feldanwendung der oralen Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut. *Arch. Tierheilk.*, 142, (2000), 439-446.

MASSON, E. – AUBERT, M.F.A.: La vaccination orale des renards en 1994, *Bulletin épidémiologique mensuel de la rage animale en France*, 24, (1994), 1-2.

MASSON, E. – AUBERT, M.F.A. – BARRAT, J. – VUILLAME, P.: Comparison of the efficacy of the antirabies vaccines used for foxes in France. *Vet. Res.*, 27, (1996), 255-266.

MATOUCH, O. – JAROŠ, J. – VITÁSEK, J.: Vzteklna v ČR a její tlumení orální vakcinací lišek. *Aktuální otázky zoonóz, Sborník referátů, Brno*, (2002a), 49-52.

MATOUCH, O. – VITÁSEK, J.: Rabies situation and rabies control in the Czech Republic 2000-2002. *Rab. Bull. Europe*, 26, (4), (2002b), 5-8.

MATOUCH, O. – VITÁSEK, J. – SEMERAD, Z. – MALENA, M.: Rabies - free status of the Czech Republic after 15 years of oral vaccination, *Rev. Sci. Tech. Off.int.Epiz.*, 26 (3), (2007), 577-584.

McColl, K.A. – TORDO, A. – AQUILAR SETIÉN, A.: Bat lyssavirus infections, *Rev. Sci. Tech. OIE*, 19, (1), (2000), 177-196.

MUTINELLI, F.: Rabies control in Italy. WHO Meeting of Rabies Control in middle and east European countries, Košice, 25.-27.9.2002.

MÜLLER, W.W.: Review of reported rabies case data in Europe to the WHO Collaborating Centre Tübingen from 1977 to 2000. *Rabies Bulletin Europe*, 3, (2000), 11-19.

MÜLLER, T. – SCHLÜTER, H. – KAUTZSCH, S.: Interaction between oral vaccination of red foxes against rabies and the fox population-dynamic. *Tierärztliche Umschau*, 50, (1995), 734-747.

MÜLLER, T. – SCHLÜTER, H.: Oral Immunization of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Europe – A Review. J. Etlik Vet. Microbiol., 9, (1998), 35-39.

NYBERG, M. – KULONEN, K. – NEUVONEN, E. – EKKOMMONEN, C. – NUORGAM, M. – WESTERLING, B.: An epidemic of sylvatic rabies in Finland – descriptive epidemiology and results of oral vaccination. Acta Vet. Scand., 33, (1992), 43-57.

ONDREJKA, R. – BENÍŠEK, Z. – ŠVRČEK, Š. – a kol.: Izolácia kmeňa Lyssavirus Duvenhage z insektivorných netopierov na Slovensku, identifikácia monoklónovými protilátkami. Zborník abstraktov z 19. Zjazdu Československej spoločnosti mikrobiologickej pri ČSAV, Košice, (1992), 85.

PASTEUR, L.: Methode pour prévenir la rage après morsure. Compte rendu hebdomadaire des séances de l' Academie des Sciences, 101, (1885), 765-772.

PASTORET, P.P. – BROCHIER, B. – LANGUET, B. – a kol.: First Field Trial of fox vaccination Against Rabies Using a Vaccinia-Rabies recombinant Virus. Vet. Rec., 123, (1998), 481-483.

RABIES BULLETIN EUROPE, Reports on the disease and surveillance information from the World Health Organization, (2000-2010).

SERRA-COBO, J. – AMENGUAL, B. – ABELLÁN, C. – BOURHY, H.: European bat lyssavirus infection in spanish bat population. Emerg. Infect. Dis. 8, 4, (2002), 413-420.

SCHNEIDER, L.G. – COX, J.H.: Ein Feldversuch zur oralen Immunisierung von Füchsen gegen Tollwut in der Bundesrepublik Deutschland. Tierärztl. Umsch., 5, (1983). 315-324.

STRIMPL, V.: O tlumení vztekliny na Slovensku a Podkarpatské Rusi. Věstník Ministerstva veřejného zdravotnictví a tělesné výchovy, 13, (6), (1931), 279-288.

ŠTÁTNA VETERINÁRNA A POTRAVINOVÁ SPRÁVA SLOVENSKEJ REPUBLIKY: Orálna vakcinácia líšok proti besnote - metodické pokyny. Bratislava, (2000-2011).

ŠVRČEK, Š. Orálna vakcinácia líšok proti besnote. Metodické pokyny. Bratislava, ŠVS SR, (1992a), 12 s.

ŠVRČEK, Š. Diagnostika besnoty. In: Švrček Š. – Bajová V. – Beníšek Z. – a kol.: Návody k vybraným praktickým cvičeniam z epizootológie a infektológie. Magnus, Košice, (1992b), 51-54.

ŠVRČEK, Š. – SOKOL, J. – LOVÁS, B. – a kol.: Epizootological situation and control of rabies in the Slovak Republic. WHO Rabies Conference. Proceedings, 19, Budapest (Hungary), april 1995.

ŠVRČEK, Š. – SOKOL, J. – ONDREJKOVÁ, A. – a kol.: Analýza epizootologickej situácie v besnote na Slovensku a v ďalších európskych štátoch. Vedecká konferencia „Zdravie a choroby zvierat – Aktuálne problémy epizootológie a infektológie“, Zborník prác, 24-27, Košice (1999).

ŠVRČEK, Š. – ONDREJKA, R. – ONDREJKOVÁ, A. – a kol. Ecological aspects of oral antirabies vaccination of free-living red foxes (*Vulpes vulpes*). Experiences with its carrying out in Slovakia. Scientific bulletin of Uzhgorod National University, Series: Biology, 9, (2001), 138-141.

URSÍNY, J. – STOLZOVÁ-SUTORISOVÁ, M.: Besnota. Príroda, Bratislava, (1970), 113 s.

VOS, A. - MÜLLER, T. – SCHUSTER, P. – SCHLÜTER, H. – NEUBERT, A. Oral vaccination of foxes against rabies with SAD B19 in Europe 1983-1988: A review. Veterinary Bulletin, 70, No1., (2000).

VOS, A. - MÜLLER, T. – SELHORST, T. - SCHUSTER, P. – NEUBERT, A. - SCHLÜTER, H. Optimising spring oral vaccination campaigns of foxes against rabies. Dtsch. Tierärztl. Wschr., 108, (2001), 55-59.

WINKLER, W.G. – MCLEAN, R.G. – COWART, J.C. Vaccination of foxes against rabies using ingested baits. J. Wildl. Dis., 11, (1975), 382-388.

WANDELER, A.I.: Oral immunization of wildlife. In: Baer G.M. (ed.): The Natural History of Rabies. 2-nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, (1991), 485-503.

WANDELER, A.I.: Oral immunization against rabies: afterthoughts and foresight. Schweiz. Arch. Tierheilk, 142, (2000), 455-462.

WINKLER, W.G. Epidemiology, In: Baer G.M. (ed.): The Natural History of Rabies. 2-nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, (1991), 255-257

ZIENIUS, D. – BAGDONAS, J. – DRANSEIKA, A. Epidemiological situation of rabies in Lithuania from 1990 to 2000. *Vet. Microbiol.*, 93, (2003), 91-100.

ZMUDZINSKI, J.F. – SMRECZAK, M. Rabies situation and rabies control in Poland. Report of the seminar on „Rabies control in wild life in the Candidate Countries“, Brussels, December 2000.