

*Originalni članci/
Original articles*

ISPITIVANJE FAKTORA ZNAČAJNIH ZA
USPEŠNU IMUNIZACIJU PASA PROTIV
BESNILA

ASSESSMENT OF FACTORS OF
SIGNIFICANT IMPORTANCE
FOR SUCCESSFUL RABIES VACCINATION
OF DOGS

Correspondence to:

Dragana Vujin dipl. biolog

Pasterov zavod Novi Sad,
Hajduk Veljkova 1.
Telefon: 021/420-528
Tel/Fax +381-21-420528
E-mail: ungurovicpaster@ptt.rs

Dragana Vujin¹, Uroš Ungurović¹, Gordana Stojadinović¹ i
Srđan Stankov¹

¹ Zavod za antirabičnu zaštitu Pasterov zavod, Novi Sad

Key words

rabies, immunity, dogs

Ključne reči

besnilo, imunitet, psi

Apstrakt

Prethodno testiranje nivoa neutrališućih antirabičnih antitela u kućnih ljubimaca imunizovanih protiv besnila, i to pasa, mačaka i životinja iz porodice kune omogućilo je znatnu redukciju ili potpuno ukidanje karantiniranja životinja u međunarodnom prometu kao veoma nepopularne mere prevencije prenošenja besnila preko državnih granica. Da bi ovakvo testiranje dalo zadovoljavajući rezultat, potrebno je poznavati i po mogućnosti blagovremeno neutralisati faktore koji značajno snižavaju specifični imunitet, odnosno favorizovati faktore koji ga stimulišu. Da bi se ovi faktori istražili, jedan od najpouzdanijih metoda je analiza dostupnih podataka za veliki broj životinja koje se podvrgavaju testiranju antirabičnog imuniteta.

Na našem uzorku od ukupno 6475 pasa ispitali smo uticaje pola, rase, uzrasta, broja primljenih doza vakcine, kao i vremena proteklog od poslednje vakcinacije do momenta uzorkovanja.

Potvrđeni su raniji nalazi drugih autora o značajnom uticaju rase i uzrasta psa, zatim ukupnog broja primljenih doza antirabične vakcine i vremenskog intervala između poslednje vakcinacije i uzorkovanja za razvoj protektivnog antirabičnog imuniteta u pasa. Veoma važan je i izbor optimalnog vremena uzorkovanja, što predstavlja vremenski interval do 2 meseca od poslednje vakcinacije.

UVOD

Praksa zaštite domaćih životinja od besnila, prvenstveno pasa i mačaka na teritoriji Srbije datira još od 1927. godine kada se prvi put vrši vakcinacija životinja protiv besnila vakcinom dr Hempta tzv. lipovakcina. Ova vakcina predstavljala je uljani rastvor sa živim atenuisanim virusom besnila, tzv. fiksnim virusom, a kasnije se upotrebljavala klasična Hemptova mrtva vakcina. Već od 1947. godine uvodi se obavezna preventivna vakcinacija pasa protiv besnila, dok 1958. godine nije više bilo ni jednog slučaja besnila kod pasa. Potom je bilo prijavljeno pojedinačnih slučajeva besnila kod pasa, ali praktično od 1958. godine u Vojvodini nema besnila koje se širilo sa psa na psa, dok je u drugim oblastima bivše SFRJ urbano besnilo eliminisano početkom 1980-tih⁽¹⁻³⁾. Da bi se održala

ovakva pozitivna slika na terenu Uprava za veterinu je zakonskim aktima uredila i propisala redovnu vakcinaciju pasa inaktivisanom antirabičnom vakcinom jednom godišnje.

Pošto besnilo još uvek predstavlja ogroman problem javnog zdravlja u mnogim zemljama širom sveta s jedne strane, i potrebe internacionalnog nekomercijalnog prometa životinja, a naročito uvoza kućnih ljubimaca koji nažalost i značajno povećava rizik prenošenja besnila u zemlje u koje se životinje uvoze s druge strane, bilo je potrebno osnivanje karantina za životinje koje se uvoze, a sa razvojem standardnih veterinarskih procedura unutar Evropske Unije (EU) ova mera ostala je obavezna uglavnom kod uvoza iz zemalja van EU. Ipak, i kao takva pokazala se veoma problematičnom i nepraktičnom prvenstveno zbog dugog perioda karantina koji je velikim delom obesmišljavao

internacionalni promet pasa i mačaka za kraće vremenske intervale. Imajući u vidu eksperimentalne nalaze i epidemiološka ispitivanja o korelaciji nivoa neutrališućih antirabijskih antitela i zaštite životinja od infekcije besnilom⁽⁴⁾, legislativa EU je izmenjena, tako da je karantin kao obavezna mera uglavnom ukinut, a kao zamena za njega uvedeno je testiranje prethodno imunizovanih kućnih ljubimaca, i to pasa, mačaka i životinja iz familije kuna na antirabična antitela testovima FAVN (Fluorescent Antibody Virus Neutralization) ili RFFIT (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test)⁽⁵⁾. Od 2006. godine u Pasterovom zavodu u Novom Sadu u Laboratoriji za serološku dijagnostiku radi se serološki test FAVN⁽⁶⁾, kojim se znatno skraćuje ili u potpunosti ukida period karantina u zemljama EU, na Havajima, Japanu, Australiji, Novom Zelandu i u Ujedinjenom Kraljevstvu.

Serološki test virusne neutralizacije je vrlo osetljiv i visoko specifičan za vakcinalna antitela protiv besnila u animalnim serumima. Prisustvo ovih antitela u dovoljnoj meri (0.50 IJ/ml) potvrđuje efikasnu zaštitu životinja koje su prethodno vakcinisane inaktivisanom antirabičnom vakcinom. Na visinu titra antitela u serumu životinja mogu da utiču razni faktori kao što su opšte fizičko stanje životinje, rasa, uzrast u momentu imunizacije, vreme proteklo od primanja poslednje doze antirabične vakcine, kao i ukupni broj primljenih doza vakcine do momenta uzorkovanja⁽⁷⁻¹¹⁾.

S obzirom na relativno veliki broj ispitanih seruma pasa koji su dostavljeni sa odgovarajućom propratnom dokumentacijom u kojoj su naznačeni i podaci koji se odnose na faktore od mogućeg znatnog uticaja na visinu antirabičnog imuniteta, preduzeli smo retrospektivnu studiju o uticaju ovih faktora na antirabični imunitet u pasa i dobijene rezultate komparirali sa iskustvima drugih autora.

MATERIJAL I METODE

Faktori koji utiču na imuni odgovor pasa na inaktivisanu vakcinu protiv besnila analizirani su u formi retrospektivne obrade podataka koji se odnose na uzorke testirane u Laboratoriji za serološku dijagnostiku Pasterovog zavoda u Novom Sadu u periodu od januara 2006. do jula 2012. godine.

2.1. Uzorci i testiranje uzoraka

Uzorke za ispitivanje sadržaja antirabičnih antitela predstavljali su inaktivisani serumi pasa transportovani u laboratoriju u periodu do 4 dana od momenta uzimanja krvi, bez dodatka antikoagulansa. Vađenje krvi, izdvajanje seruma i njihova inaktivacija vršena je u veterinarskim ambulancama na teritoriji Republike Srbije, a izuzetno i od strane veterinarske službe susednih zemalja.

U cilju ispitivanja sadržaja neutrališućih antitela na besnilo korišćen je fluorescentni test na neutrališuća antitela na besnilo - fluorescent antibody virus neutralization (FAVN) test⁽⁶⁾.

2.2. Podaci o ispitivanim životinjama i njihovom vakcinalnom statusu

Zajedno sa uzorkom veterinarske ambulante su slale i formular sa podacima o polu psa, zatim rasi, datumu rođenja, datumu primanja poslednje doze antirabične vakcine, datumu uzorkovanja, kao i o ukupnom broju primljenih doza vakcine do momenta uzorkovanja. Za obradu su uzeti svi formulari za posmatrani period, i to ukupno 6475. Svaki navedeni faktor je zatim podvrgnut statističkoj obradi kako bi se utvrdio značaj svakog od njih za uspešnost preventivne imunizacije pasa protiv besnila

2.3. Statistička obrada rezultata

Prema rezultatima testa svi ispitani uzorci su podeljeni na grupu sa nivoom antitela manjim od 0.5 IJ/ml (nezadovoljavajući rezultat) i na grupu sa rezultatom 0.5 IJ/ml (zadovoljavajući rezultat). Na isti način su deljene i grupe uzoraka prema polu, rasi, uzrastu, broju primljenih doza vakcine, i vremenu proteklom od poslednje vakcinacije do uzorkovanja, pri čemu su grupe pasa kod kojih u odgovarajućim formularima posmatrana svojstva nisu navedena označene sa „nepoznato”. Za svaku grupu sa bar 30 uzoraka određena je odgovarajuća proporcija nezadovoljavajućih rezultata i izražena procentualno, a statistička signifikantnost na nivou $P = 0.05$ određena je Fišerovim egzaktnim testom⁽¹²⁾ kao obostrana P vrednost.

REZULTATI

3.1. Imuni odgovor prema polu

Rezultati su prikazani u Tabeli 1.

Tabela 1

Imuni odgovor prema polu psa.

(1) POL	2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/ml	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
MUŽJACI	340	3126	10.9	0.084
KUJE	316	3317	9.5	0.071

* $p < 0.05$

Oba pola imala su približno isti procenat nedovoljnog nivoa antitela, i to mušjaci 10.9% (340 od 3126) a kuje nešto manje, 9.5% (316 od 3317). Razlike u odnosu na opšti procenat za vrstu od 10.2 % (660 od 6475) nisu signifikantne u Fišerovom testu ($P = 0.084$ za mušjake, a $P = 0.071$ za kuje).

3.2. Imuni odgovor prema rasi

Tabela 2

Imuni odgovor prema rasi psa

(1) RASA	(2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/ml	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
DOBERMAN	16	88	18.2	0.020*
AMERIČKI STAFORD TERIJER	11	45	24.4	0.004*
BIGL	7	39	17.9	0.111
BIŠON	20	139	14.4	0.117
ČIVAVA	7	78	9.0	0.852
DOGA	5	30	16.7	0.224
JAZAVIČAR	1	41	2.4	0.120
JORKŠIRSKI TERIJER	5	55	9.1	1.000
KOKER ŠPANIJEL	4	68	5.9	0.313
LABRADOR RETRIVER	20	106	18.9	0.005*
MALTEZER	16	243	6.6	0.065
MEŠANAC	192	2595	7.4	0.106 E-10*
MOPS	10	42	23.8	0.008*
NEMAČKI BOKSER	10	41	24.4	0.007*
NEMAČKI PTIČAR	6	61	9.8	1.000
NEMAČKI OVČAR	20	184	10.9	0.711
PATULJASTA PUDLA	1	91	1.1	0.001*
PATULJASTI ŠNAUCER	6	53	11.3	0.818
PEKINEZR	7	113	6.2	0.207
PINČ	4	52	7.7	0.817
PTIČAR	6	47	12.8	0.473
PUDLA	23	241	9.5	0.828
ROTVAJLER	31	159	19.5	0.004*
ŠAR-PEJ	4	34	11.8	0.773
ŠI CU	4	67	6.0	0.313
ŠNAUCER	4	53	7.5	0.653
TERIJER	28	303	9.2	0.628
TOJ PUDLA	1	34	2.9	0.251
ZLATNI RETRIVER	30	223	13.4	0.114

* p<0.05

Od ukupno 29 ispitanih rasa uključujući i mešanu rasu, 6 rasa je imalo značajno veći procenat nezadovoljavajućeg imunog odgovora, i to dobermani, američki staford terijeri, labrador retriveri, mopsi, nemački bokseri, i rotvajleri, dok je značajno bolji imunitet detektovan kod mešanaca i patuljastih pudli. Ovakvi rezultati uglavnom predstavljaju refleksiju veličina rasa, pošto je doziranje vakcine kod vakcinacije fiksno, pa je relativna doza u odnosu na telesnu težinu veća kod manjih rasa, ali se ne svodi samo na ovaj faktor, već je

delom zavisna i od genetske osnove rase. Tako na primer, za nemačke ovčare procenat adekvatne reakcije na vakcinu protiv besnila je skoro identičan opštem proseku (89.1 % prema 89.8%, pri čemu razlika nije signifikantna (P = 0.711).

3.3. Imuni odgovor prema uzrastu

Tabela 3

Imuni odgovor prema uzrastu psa u momentu poslednje vakcinacije protiv besnila

(1) UZRAST (MESECI)	(2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/ml	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
NEPOZNAT	14	205	6.8	0.126
3 ILI MANJE	22	98	22.4	2.917 E-4*
3-6	234	1221	19.2	1.744 E-35*
6-12	161	1084	14.8	1.104 E-7*
12-24	96	1238	7.7	0.001*
24-36	47	715	6.6	4.920 E-4*
36-48	27	504	5.4	8.374 E-5*
48-60	20	327	6.1	0.011*
60-72	16	271	5.9	0.014*
72-84	8	225	3.5	2.845 E-4*
84-96	4	165	2.4	2.074 E-4*
96-108	4	134	3.0	0.003*
108-120	3	84	3.6	0.044*
120-132	3	85	3.5	0.044*
132-144	0	47	0	0.013*
144-156	0	36	0	0.046*
VIŠE OD 156	1	36	2.8	0.173

* p<0.05

Postignuti imunitet bio je znatno slabiji u pasa starosti do 12 meseci u vreme poslednje vakcinacije, dok je imunitet u starijih pasa bio značajno bolji od prosečnog nivoa. Ovi podaci su u skladu sa dinamikom

razvoja reaktivnosti imunog sistema pasa tokom života, čemu su prilagođene i preporuke za kalendar preventivne imunizacije pasa.

3.4. Imuni odgovor prema broju primljenih doza

Tabela 4

Imuni odgovor prema broju primljenih doza antirabične vakcine

(1) UKUPAN BROJ PRIMLJENIH DOZA ARV	(2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/ml	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
NEPOZNAT	9	74	12.2	0.560
1	523	3085	16.9	9.038 E-69*
2	97	2066	4.7	2.333 E-26*
3 ILI VIŠE	31	1250	2.5	4.137 E-30*

* p<0.05

Jačina antirabičnog imuniteta, kao što se i očekivalo, direktno je srazmerna broju primljenih doza, pri čemu je kod pasa koji su primili samo jednu dozu procenat rezultata ispod 0.5 IJ/ml značajno veći (16.9%, P = 9.038 E-69!), a kod onih koji su dobili 2 ili više doza značajno manji od opšteg proseka od 10.2%, i to posle 2 doze 4.7%, a posle 3 ili više doza 2.5 %.

3.5. Imuni odgovor prema uzrastu u pasa sa ukupno jednom primljenom dozom

Tabela 5

Imuni odgovor prema uzrastu pasa koji su primili ukupno samo jednu dozu antirabične vakcine

(1) UZRAST (MESECI)	(2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/m	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
NEPOZNAT	10	58	17.2	0.08
3 ILI MANJE	21	82	25.6	4.914 E-5*
3-6	219	1067	20.5	4.138 E-29*
6-12	143	763	18.7	2.161 E-14*
12-24	58	475	12.2	0.134
24-36	31	226	13.7	0.092
36-48	17	132	12.9	0.307
48-60	12	69	17.4	0.069
60-72	5	66	7.6	0.681
72-84	3	38	7.9	1.000
84-96	2	42	4.8	0.314
VIŠE OD 96	3	68	4.4	0.155

* p<0.05

S obzirom da sa uzrastom obično raste i ukupan broj primljenih doza, očigledno je da ovaj poslednji faktor može biti delimično ili u potpunosti odgovoran za uočeni efekat uzrasta na postignuti nivo imuniteta. Da bismo utvrdili čist efekat uzrasta životinje na imunitet, posmatrali smo imuni odgovor u gore navedenim uzrasnim grupama pasa koji su primili ukupno samo jednu dozu antirabične vakcine.

Efekat uzrasta je u osnovi isti kao i u osnovnoj grupi prikazanoj u Tabeli 3, što znači da su psi starosti preko 12 meseci znatno bolje reagovali na vakcinaciju od mlađih pasa. Prema tome, uzrast kao samostalni faktor značajno je uslovio kompetentnost imunog sistema pasa na našem uzorku.

3.6. Imuni odgovor prema vremenu proteklom od poslednje vakcinacije protiv besnila

Tabela 6

Imuni odgovor prema vremenu proteklom od poslednje vakcinacije

(1) VREME OD POSLEDNJE DOZE ARV (MESECI)	(2) BROJ REZULTATA <0.5 IJ/ml	(3) UKUPNO REZULTATA	(4) PROCENTUALNI ODNOS (2)/(3)	(5) FIŠEROV TEST (OBOSTRANA P VREDNOST)
NEPOZNATO	13	114	11.4	0.639
VIŠE OD JEDNOG	6	567	1.1	5.564 E-20*
1-2	171	2814	6.1	1.203 E-22*
2-3	127	852	14.9	3.462 E-6*
3-4	78	425	18.3	1.204 E-7*
4-5	55	349	15.8	9.756 E-4*
5-6	55	315	17.5	5.095 E-5*
6-7	51	253	20.2	1.230 E-6*
VIŠE OD 7	102	786	13.0	0.008*

* p<0.05

Ukoliko je vreme proteklo od poslednje vakcinacije manje od 2 meseca, uspešnost vakcinacije je povećana, a ako je period duži, ispitani imunitet je slabiji u odnosu na prosek. Tako se na primer udeo nezadovoljavajućih rezultata od intervala 1-2 meseca do perioda

3-4 meseca utrostručuje, i to sa 6.1% do 18.3%, uz visoku statističku značajnost. Ovaj odnos predstavlja jasan indikator za optimalno vreme uzorkovanja za testiranje postignutog imuniteta u odnosu na momenat poslednje vakcinacije životinje.

DISKUSIJA

Na našem uzorku koji je po veličini bio komparabilan sa onima kod sličnih istraživanja drugih autora potvrdili smo nalaze autora Mansfield i sar.⁽⁷⁾, Berndtsson-a i sar.⁽⁹⁾ i Jakel-a i sar.⁽¹⁰⁾ da pol životinje ne utiče bitno na formiranje antirabičnog imuniteta.

Kada je u pitanju uticaj rase, generalno su potvrđene opservacije Kennedy-a i sar.⁽⁸⁾, kao i drugih studija da je intenzitet vakcinalnog imunog statusa obrnuto srazmeran veličini rase, mada su i u pomenutom radu kao i u našem uzorku nađene rase koje odstupaju od ovog pravila, što bi govorilo u prilog interferirajućem uticaju genetske osnove kod ovih rasa na imuni odgovor. Ovakav nalaz je najverovatnije logična posledica činjenice da se kod doziranja vakcine prilikom vakcinacije odstupa od generalnog pravila doziranja lekova prema telesnoj težini pacijenta, već se daje unapred određena fiksna doza.

Uticaj uzrasta na imunitet poklapa se sa nalazima ranijih istraživanja, tako da psi starosti do 12 meseci imaju znatno lošiji imuni odgovor u odnosu na starije pse, što se tumači nepotpunim razvojem specifičnog sistema imuniteta do pomenutog uzrasta. Uticaj uzras-

ta je u osnovi nezavisan od broja ranije primljenih doza vakcine, tako da su preporuke o minimalnom uzrastu od 1 godine da bi se pas podvrgao vakcinaciji protiv besnila potpuno opravdane.

Konačno, period od 1 do 2 meseca posle poslednje primljene doze vakcine pokazao se optimalnim kao vreme uzorkovanja seruma psa radi kontrole postvakcinalnog imuniteta, što se poklapa i sa nalazima drugih autora.

ZAKLJUČAK

Naši rezultati potvrđuju ranije nalaze o značajnom uticaju rase i uzrasta psa, zatim ukupnog broja primljenih doza antirabične vakcine i vremenskog intervala između poslednje vakcinacije i uzorkovanja za test imuniteta. Istovremeno uticaj rase se prikazuje kao složena interakcija veličine rase sa genetskom podlogom iste. Za optimalne rezultate testa antirabičnog imuniteta u pasa osim bioloških faktora neophodan je i izbor optimalnog vremena uzorkovanja, što predstavlja vremenski interval do 2 meseca od vakcinacije.

Abstract

Previous testing of rabies virus neutralizing antibodies in pets, specifically dogs, cats and animals of mustelidae family immunized against rabies enabled significant reduction or even total ban of quarantine for animals in international transport as a very unpopular procedure for prevention of rabies spread over international borders. For the satisfying result of immunity testing, one should recognize and if feasible timely neutralize factors that lower specific immunity significantly, and favorize factors that enhance it. For examination of these factors, analysis of data for large number of animals that undergo immunity testing is one of the most reliable methods.

We have examined the influences of sex, breed, age, number of vaccine doses received, and also the interval between last vaccination and blood sampling for immunity testing. We have confirmed earlier findings of other authors about significant influence of breed, age, total number of vaccine doses and the interval between last vaccination and sampling. Of special importance is the choice of the optimal sampling time, that is the interval up to 2 months from last vaccination.

REFERENCE

- 1 Mutinelli F, Stankov S, Hristovski M, Seimenis A, Theoharakou H, Vodopija I. Rabies in Italy, Yugoslavia, Croatia, Bosnia, Slovenia, Macedonia, Albania & Greece. In: King A., Fooks A, Aubert M, Wandeler A (eds): Historical perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin. Paris, OIE, 2004, pp. 93-118.
- 2 Stankov S., Lalošević D, Pavlović R, Lalošević V, Knežević N, Budimčević I. Besnilo pasa i efikasnost aktivne imunoprofilakse u SR Jugoslaviji. Med pregl 1998;LI:Supl 1: 43-46.
- 3 Lalošević D: Dr Adolf Hempt i osnivanje Pasterovog zavoda u Novom Sadu. Novi Sad: Medicinski fakultet Novi Sad; 2008.
- 4 Aubert MFA. Practical significance of rabies antibodies in cats and dogs. Rev Sci Tech Off Int Epizoot 1992;11:735-760.

- 5 Regulation (EC) No. 998/2003 of the European Parliament and of the Council of 26 May 2003 on the animal health requirements applicable to the non-commercial movement of pet animals and amending Council Directive 92/65/EEC.
- 6 Cliquet F, Aubert M, Sagné L. Development of a fluorescent antibody virus neutralisation test (FAVN test) for the quantitation of rabies-neutralising antibody. J Immunol Methods 1998;212:79-87.
- 7 Mansfield KL, Burr PD, Snodgrass DR, Sayers R, Fooks AR. Factors affecting the serological response of dogs and cats to rabies vaccination. Vet Rec. 2004;154:423-426.
- 8 Kennedy LJ, Lunt M, Barnes A, McElhinney L, Fooks AR, Baxter DN, Ollier WER. Factors influencing the antibody response of dogs vaccinated against rabies. Vaccine. 2007;25:8500-8507.

- 9 Berndtsson LT, Nyman AK, Rivera E, Klingeborn B. Factors associated with the success of rabies vaccination of dogs in Sweden. Acta Vet Scand. 2011;53(1):22.
- 10 Jakel V, König M, Cussler K, Hanschmann K, Thiel HJ. Factors influencing the antibody response to vaccination against rabies. Dev Biol. 2008;131:431-436.
- 11 Cliquet F, Verdier Y, Sagné L, Aubert M, Schereffer JL, Selve M, Wasniewski M, Servat A: Neutralising antibody titration in 25,000 sera of dogs and cats vaccinated against rabies in France, in the framework of the new regulations that offer an alternative to quarantine. Rev Sci Tech Off Int Epiz 2003;22:857-866.
- 12 Fisher's Exact Test Calculator for 2x2 Contingency Tables, <http://research.microsoft.com/en-us/um/redmond/projects/mscompbio/fisherexacttest/>