



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. NEŠKODNOST

Kozy



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

OBSAH

A. ÚVOD

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

C. LABORATORNÍ TESTY

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky



A. ÚVOD

Tato část sumarizuje výsledky neškodnosti vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet., obsahující atenuovaný vakcinační virus vztekliny kmene SAD Bern, po aplikaci tohoto veterinárního imunobiologického preparátu kozám.

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

1. Zkouška neškodnosti byla provedena u koz.
2. Doporučená dávka byla aplikována za účelem provedení zkoušky neškodnosti.
Zkouška neškodnosti byla provedena v souladu s Evropským lékopisem a doporučením WHO.
3. Pro účely testu neškodnosti byla připravena šarže v souladu s registrační dokumentací.

C. LABORATORNÍ TESTACE

Laboratorní testy byly provedeny v souladu s Evropským lékopisem, 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) a doporučením WHO.

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky

Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky u koz

Souhrn:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet. byla testována po podání desetinásobné maximální doporučené dávky u 10 ks koz. Během 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. nebyly zaznamenány žádné příznaky vztekliny u pokusných zvířat. Po uběhnutí pozorovací doby byla všechna pokusná zvířata utracena a virus vztekliny nebyl prokázán metodou přímé imunofluorescence v mozkové kůře, mozečku, prodloužené míše a v Amonově rohu. V žádném případě nebyla prokázána vzteklinu u pokusných zvířat. Stanovení antirabických protilátek bylo v období 1, 2, 3 a 6 měsíců po aplikaci viru pozitivní.

Diskuse:

Kozy mohou být necílovým druhem v přijímání návnad Lysvulpen por. ad us. vet. Obecně jsou kozy středně vnímavé k onemocnění vzteklinou. To bylo prokázáno i ve vytvoření si protilátek po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. v průběhu 6 měsíců po její aplikaci. Též nebylo prokázáno onemocnění vzteklinou v průběhu pozorovací doby 180 dní a následným vyšetřením mozku na přítomnost vzteklinového antigenu nebyla laboratorně též vzteklinu prokázána. Pozorovací doba 180 dní je dostatečná pro projevení se příznaků vztekliny u všech druhů zvířat i ptáků. Pro laboratorní diagnostiku vztekliny byl též použit vysoce citlivý a specifický test přímé imunofluorescence.

Závěr:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet se prokázala být neškodná v desetinásobné maximální doporučené dávce aplikované per os kozám. Tento závěr je podložen výsledky klinického sledování pokusných zvířat po dobu 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. a následným vyšetřením mozku pokusných zvířat na přítomnost viru vztekliny.

**Seznam a charakteristika zvířat zahrnutých do zkoušky neškodnosti
(druh – kozy)**

Pořadové číslo kozy	Ident. číslo kozy	Charakteristika zvířat			Poznámka
		věk	pohlaví	zdravotní kondice	
1	Ko1	3 měsíce	♂	dobrá	
2	Ko2	3 měsíce	♂	dobrá	
3	Ko3	3 měsíců	♀	dobrá	
4	Ko4	3 měsíce	♀	dobrá	
5	Ko5	3 měsíců	♀	dobrá	
6	Ko6	3 měsíce	♂	dobrá	
7	Ko7	3 měsíců	♀	dobrá	
8	Ko8	3 měsíce	♂	dobrá	
9	Ko9	1 rok	♀	dobrá	
10	Ko10	1 rok	♂	dobrá	

Testační protokol

a) Popis užitých metod:

a1) **Monitorování a vyhodnocení nežádoucích reakcí**

– pozorování nežádoucích reakcí a zaznamenávání nežádoucích reakcí, klinických symptomů spojených se vzteklinou – změna chování, změna hlasového projevu, paréza svalů, paralýza svalů, hromadění a vylučování slin, paralýza svalových skupin vedoucích ke smrti zvířete.

a2) **“Post mortem” diagnostika vztekliny**

– přímá imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).

a3) **Stanovení antirabických protilátek**

– FAVN test – detekce antirabických protilátek (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Popis použitých nástrojů a zařízení:

- injekční stříkačka 2 ml s aplikátorem
- imunofluorescenční mikroskop, podložní sklíčka
- pítavní náradí
- lednička 2 – 8 °C, mraznička – 18 °C, hlubokomrazící pult – 80 °C
- termostat 37 °C s 5% CO₂
- umělohmotné destičky pro práci s tkáňovými kulturami
- pipety pro práci s tkáňovými kulturami

c) Popis použitého materiálu:

- notes na zaznamenávání denního klinického stavu zvířat
- testovaný materiál MSV Bio 10 + 1 v desetinásobku maximálního používaného vakcinačního titru
- konjugát antirabický
- standardy k provádění přímé imunofluorescence a FAVN testu

d) Použití testovaných zvířat:

- d1) **Druh** - kozy
- d2) **Kategorie zvířat** - od 3 měsíců do 1 roku
- d3) **Původ zvířat** - zvířata z České republiky
- d4) **Identifikace zvířat** - individuální ustájení, ušní známky
- d5) **Počet zvířat** - 10 ks

- d6) **Podmínky pro držení a umístění zvířat** - pokusná zvířata byla umístěna individuálně v boxech po 1 ks
- d7) **Krmení zvířat** - zvířata dostávala krmení 3x denně, ráno, v poledne a večer. Strava spočívala ze speciálních krmných směsí pro kozy těchto kategorií a lučního sena.
- d8) **Jméno vlastníka zvířat** - Bioveta, a. s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- d9) **Jméno testovacího zařízení** - Bioveta, a.s., se sídlem v Ivanovicích na Hané

e) **Aplikační dávka, způsob aplikace, aplikační schéma, teplotní monitoring a sledování klinických nežádoucích reakcí**

- Aplikační dávka** - 2,0 ml testovaného viru vztekliny
- Způsob aplikace** - per os, uměle, za pomoci umělohmotné stříkačky s gumovým nástavcem
- Aplikační schéma** - testovaný virus byl aplikován umělým způsobem jednorázově
- Pozorování nežádoucích reakcí** - pokusná zvířata byla sledována denně a byly zaznamenávány všechny neobvyklé či nežádoucí reakce zvířat se zaměřením na přítomnost onemocnění vzteklinou.
- “Post mortem” diagnostika vztekliny** - vzteklina byla diagnostikována z mozkové kůry, mozečku, prodloužené míchy a Amonova rohu metodou přímé imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).
- Stanovení antirabických protilátek** - antirabické protilátky byly stanovovány ze sér testovaných zvířat v stanovených intervalech. Antirabické protilátky byly stanovovány metodou FAVN testu (Cliquet and Barrat, 1996)

Jméno, adresa, pozice a kvalifikace zkoušející osoby:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Narozen: 26. listopadu 1953

Vzdělání: 1969 - 1973: Střední zemědělská technická škola - obor veterinární, Kroměříž

1973 - 1979: Vysoká škola veterinární, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, nástupní praxe

1979 - 1980: vojenská prezenční služba u veterinární služby pohraniční strážže

1980 - 1987: samostatný technický kontrolor Útvaru kontroly a řízení jakosti



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

1985 - 1990: kandidátské disertační studium vědního oboru epizootologie a
zoohygienu

1987 - 1995: vedoucí Útvaru kontroly a řízení jakosti

1995 - 1998: výrobní ředitel Biovety, s.r.o.

1998 - 2003: ředitel sekce výroby a vývoje veterinárních biopreparátů a léčiv

2003-2007: ředitel sekce inovace a vývoje biologických přípravků

od 1.1. 2007: zástupce ředitele společnosti, projekt manažer, společnost Bioveta, a.s.

Členství v odborných organizacích:

Československá společnost mikrobiologická - od r. 1980

Československá vědecká společnost pro mykologii - od r. 1980

Československá imunologická společnost - od r. 1981

Odborná činnost:

Publikace:

Autor nebo spoluautor celkem 149 odborných publikací.

Autorská osvědčení:

Autor nebo spoluautor 25 patentů.

Závěrečné oponentní zprávy:

Autor nebo spoluautor 23 závěrečných zpráv přípravků zavedených do praxe.

Odborná specializace: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Ověření vakcíny LYSVULPEN u koz

Kozka č.	Aplikace LYSVULPENU per orálně	Klinika (180 dní)	Odběry krve (IU/ml)				PITVA - IF			
			0 - inici	1 měs.	3 měs.	6 měs.	mozková kůra	mozeček	prodl. mícha	Amon. roh
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,65	2,38	2,23	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,70	2,61	2,36	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,14	2,09	1,97	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,95	1,88	1,77	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	2,05	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,13	2,10	2,05	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,88	1,66	1,52	neg.	neg.	neg.	neg.
8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,14	2,00	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,55	1,46	1,40	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,10	1,00	1,92	neg.	neg.	neg.	neg.
Průměr		neg.	0	2,039	1,923	1,908	neg.	neg.	neg.	neg.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. INOCUITATE

Capre





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

CUPRINS

A. INTRODUCERE

B. CERINȚE GENERALE

C. TESTE DE LABORATOR

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

A. INTRODUCERE

Această secțiune sumarizează rezultatele inocuității vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet., care conține virusul vaccinului atenuat contra rabiei din tulpina SAD Bern, după administrarea acestui preparat veterinar imunobiologic caprelor.

B. CERINȚE GENERALE

1. Testul de inocuitate a fost efectuat la capre.
2. Doza recomandată a fost administrată în vederea efectuării testului de inocuitate.
Testul de inocuitate a fost efectuat în conformitate cu Farmacopeea Europeană și recomandările WHO.
3. În scopurile efectuării testului de inocuitate a fost pregătit un lot în conformitate cu documentația de înregistrare.

C. TESTE DE LABORATOR

Testele de laborator au fost efectuate în conformitate cu Farmacopeea Europeană 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) și în conformitate cu recomandările WHO.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată

Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la capre

Rezumat:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la 10 capre. După 180 de zile de la administrarea vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. nu au fost înregistrate simptome de rabie la animalele experimentale. După încheierea perioadei de observație, toate animalele experimentale au fost sacrificate, iar virusul rabiei nu a fost detectat prin metoda imunofluorescenței directe în cortexul cerebral, în cerebel, în bulbul rahidian sau în cornul lui Ammon. Rabia nu a fost detectată la niciunul dintre animalele testate. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă în perioada de 1, 2, 3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Analiză:

Caprele pot fi o specie nevizată în consumarea momelii Lysvulpen por. ad us. vet. În general, caprele sunt sensibile moderat la infectarea cu rabie. Acest lucru a fost demonstrat și prin crearea de anticorpi în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. pe parcursul a 6 luni de la administrarea acestuia. Infectarea cu rabie nu a fost detectată nici în perioada de observație de 180 de zile, nici la examinarea creierului în vederea identificării antigenului rabic. Perioada de observare de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor de rabie la diferite animale și păsări. La diagnosticarea de laborator a rabiei a fost utilizat, de asemenea, un test extrem de sensibil și specific de imunofluorescență directă.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Concluzie:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet s-a dovedit a fi inofensiv la administrarea a unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată administrate oral la capre. Această concluzie este susținută de rezultatele monitorizării clinice a animalelor experimentale pe o perioadă de 180 de zile în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a animalelor experimentale în vederea detectării prezenței virusului rabiei.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

**Lista și caracteristica animalelor supuse testului de inocuitate
(specie – capre)**

Nr. ord. capră	Nr. de identificare capră	Caracteristica animalelor			Notă
		vârstă	sex	starea de sănătate	
1	Ca1	3 luni	♂	bună	
2	Ca2	3 luni	♂	bună	
3	Ca3	3 luni	♀	bună	
4	Ca4	3 luni	♀	bună	
5	Ca5	3 luni	♀	bună	
6	Ca6	3 luni	♂	bună	
7	Ca7	3 luni	♀	bună	
8	Ca8	3 luni	♂	bună	
9	Ca9	1 an	♀	bună	
10	Ca10	1 an	♂	bună	





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Protocolul de testare

a) Descrierea metodelor utilizate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

- observarea și înregistrarea reacțiilor adverse, a simptomelor clinice asociate cu rabia - schimbări în comportament, schimbări în expresia vocală, pareza musculară, paralizia mușchilor, acumularea și secreția de salivă, paralizia grupelor de mușchi care duce la moartea animalului.

a2) Diagnosticarea “post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

- test FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentelor și echipamentelor utilizate:

- seringă 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, lamelă de testare
- instrumente de autopsie
- frigider 2 – 8 °C, congelator – 18 °C, unitate de congelare – 80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- lamele din PVC pentru culturi de țesuturi
- pipete pentru manipularea țesuturilor

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet de notițe pentru înregistrarea zilnică a stării clinice a animalelor
- materialul testat MSV Bio 10 + 1 într-o doză de vaccin de zece ori mai mare decât doza maximă recomandată
- conjugat antirabic

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

7





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și a testului FAVN

d) Utilizarea animalelor testate:

- d1) Specie - capre
d2) Categoria animalelor - de la 3 luni la un an
d3) Originea animalelor - animale din Republica Cehă
d4) Identificarea animalelor - adăpostire individuală, crotalii
d5) Numărul de animale - 10 buc.
d6) Condiții de deținere și adăpostire a animalelor - animalele experimentale au fost adăpostite individual, câte unul într-o boxă
d7) Hrănirea animalelor - animalele au primit hrană de 3x pe zi, dimineața, la prânz și seara. Hrana a constat în amestecuri de furaje speciale pentru capre din această categorie și fân.
d8) Denumirea proprietarului de animale - Bioveta, a. s., cu sediul în Ivanovice na Hané
d9) Denumirea echipamentului de testare - Bioveta, a.s., cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, modul de administrare, schema de administrare, monitorizarea temperaturii și a reacțiilor clinice adverse

Doza administrată - 2,0 ml de virus de rabie testat

Modul de administrare - oral, artificial, cu ajutorul unei seringi PVC cu duză de cauciuc

Schema de administrare - virusul testat a fost administrat în mod artificial o singură dată

Monitorizarea reacțiilor adverse - animalele experimentale au fost monitorizate zilnic și s-au înregistrat toate reacțiile neobișnuite sau nedorite ale animalelor - avându-se în vedere prezența rabiei.

Diagnosticarea "post mortem" a rabiei - rabia a fost examinată în cortexul cerebral, cerebel, bulbul rahidian, și cornul lui Ammon prin metoda imunofluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973).





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Determinarea anticorpilor antirabici - anticorpii antirabici au fost determinați din serurile animalelor testate în intervale de timp specificate. Anticorpii antirabici au fost determinați pe baza testului FAVN (Cliquet and Barrat, 1996)

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei care a efectuat testarea:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Născut: 26 noiembrie 1953

Educație: 1969 - 1973: Liceul Tehnic Agricol - profil veterinar, Kroměříž
1973 - 1979: Universitatea Veterinară, Brno
1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, practică
1979 - 1980: serviciul militar în cadrul serviciului veterinar de frontieră
1980 - 1987: controlor tehnic independent în cadrul Departamentului de control și management al calității
1985 - 1990: studii de doctorat în domeniul științific epizootologie și igienă veterinară
1987 - 1995: șeful Departamentului de control și management al calității
1995 - 1998: director de producție în cadrul societății Bioveta, s.r.o.
1998 - 2003: directorul secției de producție și dezvoltare a medicamentelor și produselor biologice veterinare
2003-2007: directorul secției de inovare și dezvoltare a produselor biologice
de la 01.01. 2007: director adjunct, manager de proiect în cadrul societății Bioveta, a.s.

Calitatea de membru în organizații profesionale:

Societatea Cehoslovacă pentru Microbiologie - din 1980

Societatea Științifică Cehoslovacă de Micologie - din 1980

Societatea Cehoslovacă de Imunologie - din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

9



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Autor sau coautor al unui număr de 149 de publicații de specialitate.

Certificate de autor:

Autor sau coautor al unui număr de 25 de brevete.

Rapoarte finale:

Autor sau coautor al unui număr de 23 de rapoarte finale ale produselor introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

10



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmăției, Str. Bogdan Vodă nr. 5, ap. 17, tel: (+04) 0262-31003; Brașov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Testarea vaccinului LYSVULPEN la capre

Capra nr.	Administrare orală LYSVULPEN	Clinică (180 zile)	Prelevare de sânge (IU/ml)				AUTOPSIE - IF			
			0 - iniț	1 luni	3 luni	6 luni	cortex cerebral	cerebel	bulb rahidian	cornul lui Ammon
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,65	2,38	2,23	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,70	2,61	2,36	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,14	2,09	1,97	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,95	1,88	1,77	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	2,05	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,13	2,10	2,05	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,88	1,66	1,52	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,14	2,00	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,55	1,46	1,40	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,10	1,00	1,92	neg.	neg.	neg.	neg.
Medie		neg.	0	2,039	1,923	1,908	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

12



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmatiei, Str.Bogdan Vodă nr.5,ap.17, tel: (+04) 0262-31003; Braşov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. NEŠKODNOST

Ovce



OBSAH

A. ÚVOD

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

C. LABORATORNÍ TESTY

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky



A. ÚVOD

Tato část sumarizuje výsledky neškodnosti vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet., obsahující atenuovaný vakcinační virus vztekliny kmene SAD Bern, po aplikaci tohoto veterinárního imunobiologického preparátu ovcím.

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

1. Zkouška neškodnosti byla provedena u ovcí.
2. Doporučená dávka byla aplikována za účelem provedení zkoušky neškodnosti.
Zkouška neškodnosti byla provedena v souladu s Evropským lékopisem a doporučením WHO.
3. Pro účely testu neškodnosti byla připravena šarže v souladu s registrační dokumentací.

C. LABORATORNÍ TESTACE

Laboratorní testy byly provedeny v souladu s Evropským lékopisem, 01/2008:0746 “Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) a doporučením WHO.

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky

Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky u ovcí

Souhrn:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet. byla testována po podání desetinásobné maximální doporučené dávky u 10 ks ovcí. Během 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. nebyly zaznamenány žádné příznaky vztekliny u pokusných zvířat. Po uběhnutí pozorovací doby byla všechna pokusná zvířata utracena a virus vztekliny nebyl prokázán metodou přímé imunofluorescence v mozkové kůře, mozečku, prodloužené míše a v Amonově rohu. V žádném případě nebyla prokázána vzteklina u pokusných zvířat. Stanovení antirabických protilátek bylo v období 1, 2, 3 a 6 měsíců po aplikaci viru pozitivní.

Diskuse:

Ovce mohou být necílovým druhem v přijímání návnad Lysvulpen por. ad us. vet. Obecně jsou ovce středně vnímavé k onemocnění vzteklinou. To bylo prokázáno i ve vytvoření si protilátek po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. v průběhu 6 měsíců po její aplikaci. Též nebylo prokázáno onemocnění vzteklinou v průběhu pozorovací doby 180 dní a následným vyšetřením mozku na přítomnost vzteklinového antigenu nebyla laboratorně též vzteklina prokázána. Pozorovací doba 180 dní je dostatečná pro projevení se příznaků vztekliny u všech druhů zvířat i ptáků. Pro laboratorní diagnostiku vztekliny byl též použit vysoce citlivý a specifický test přímé imunofluorescence.

Závěr:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet se prokázala být neškodná v desetinásobné maximální doporučené dávce aplikované per os ovcím. Tento závěr je podložen výsledky klinického sledování pokusných zvířat po dobu 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. a následným vyšetřením mozku pokusných zvířat na přítomnost viru vztekliny.

**Seznam a charakteristika zvířat zahrnutých do zkoušky neškodnosti
(druh – ovce)**

Pořadové číslo ovce	Ident. číslo ovce	Charakteristika zvířat			Poznámka
		věk	pohlaví	zdravotní kondice	
1	O1	3 měsíce	♀	dobrá	
2	O2	3 měsíce	♂	dobrá	
3	O3	3 měsíců	♂	dobrá	
4	O4	3 měsíce	♀	dobrá	
5	O5	3 měsíců	♀	dobrá	
6	O6	3 měsíce	♂	dobrá	
7	O7	3 měsíců	♂	dobrá	
8	O8	3 měsíce	♀	dobrá	
9	O9	1 rok	♂	dobrá	
10	O10	1 rok	♀	dobrá	

Testační protokol

a) Popis užitých metod:

a1) Monitorování a vyhodnocení nežádoucích reakcí

– pozorování nežádoucích reakcí a zaznamenávání nežádoucích reakcí, klinických symptomů spojených se vzteklinou – změna chování, změna hlasového projevu, paréza svalů, paralýza svalů, hromadění a vylučování slin, paralýza svalových skupin vedoucích ke smrti zvířete.

a2) “Post mortem” diagnostika vztekliny

– přímá imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Stanovení antirabických protilátek

– FAVN test – detekce antirabických protilátek (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Popis použitých nástrojů a zařízení:

- injekční stříkačka 2 ml s aplikátorem
- imunofluorescenční mikroskop, podložní sklíčka
- pitevní nářadí
- lednička 2 – 8 °C, mraznička – 18 °C, hlubokomrazicí pult – 80 °C
- termostat 37 °C s 5% CO₂
- umělohmotné destičky pro práci s tkáňovými kulturami
- pipety pro práci s tkáňovými kulturami

c) Popis použitého materiálu:

- notes na zaznamenávání denního klinického stavu zvířat
- testovaný materiál MSV Bio 10 + 1 v desetinasobku maximálního používaného vakcinačního titru
- konjugát antirabický
- standardy k provádění přímé imunofluorescence a FAVN testu

d) Použití testovaných zvířat:

- d1) Druh - ovce
- d2) Kategorie zvířat - od 3 měsíců do 1 roku
- d3) Původ zvířat - zvířata z České republiky
- d4) Identifikace zvířat - individuální ustájení, ušní známky
- d5) Počet zvířat - 10 ks

- d6) **Podmínky pro držení a umístění zvířat** - pokusná zvířata byla umístěna individuálně v boxech po 1 ks
- d7) **Krmení zvířat** - zvířata dostávala krmení 3x denně, ráno, v poledne a večer. Strava spočívala ze speciálních krmných směsí pro ovce těchto kategorií a lučního sena.
- d8) **Jméno vlastníka zvířat** - Bioveta, a. s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- d9) **Jméno testovacího zařízení** - Bioveta, a.s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- e) **Aplikační dávka, způsob aplikace, aplikační schéma, teplotní monitoring a sledování klinických nežádoucích reakcí**
- Aplikační dávka** - 2,0 ml testovaného viru vztekliny
- Způsob aplikace** - per os, uměle, za pomoci umělohmotné stříkačky s gumovým nástavcem
- Aplikační schéma** - testovaný virus byl aplikován umělým způsobem jednorázově
- Pozorování nežádoucích reakcí** - pokusná zvířata byla sledována denně a byly zaznamenávány všechny neobvyklé či nežádoucí reakce zvířat se zaměřením na přítomnost onemocnění vzteklinou.
- “Post mortem” diagnostika vztekliny** - vzteklinu byla diagnostikována z mozkové kůry, mozečku, prodloužené míchy a Amonova rohu metodou přímé imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).
- Stanovení antirabických protilátek** - antirabické protilátky byly stanovovány ze sér testovaných zvířat v stanovených intervalech. Antirabické protilátky byly stanovovány metodou FAVN testu (Cliquet and Barrat, 1996)

Jméno, adresa, pozice a kvalifikace zkoušející osoby:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Narozen: 26. listopadu 1953

Vzdělání: 1969 - 1973: Střední zemědělská technická škola - obor veterinární, Kroměříž

1973 - 1979: Vysoká škola veterinární, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, nástupní praxe

1979 - 1980: vojenská prezenční služba u veterinární služby pohraniční stráže

1980 - 1987: samostatný technický kontrolor Útvaru kontroly a řízení jakosti



1985 - 1990: kandidátské disertační studium vědního oboru epizootologie a
zoohygiena

1987 - 1995: vedoucí Útvaru kontroly a řízení jakosti

1995 - 1998: výrobní ředitel Biovety, s.r.o.

1998 - 2003: ředitel sekce výroby a vývoje veterinárních biopreparátů a léčiv

2003-2007: ředitel sekce inovace a vývoje biologických přípravků

od 1.1. 2007: zástupce ředitele společnosti, projekt manažer, společnost Bioveta, a.s.

Členství v odborných organizacích:

Československá společnost mikrobiologická - od r. 1980

Československá vědecká společnost pro mykologii - od r. 1980

Československá imunologická společnost - od r. 1981

Odborná činnost:

Publikace:

Autor nebo spoluautor celkem 149 odborných publikací.

Autorská osvědčení:

Autor nebo spoluautor 25 patentů.

Závěrečné oponentní zprávy:

Autor nebo spoluautor 23 závěrečných zpráv přípravků zavedených do praxe.

Odborná specializace: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Ověření vakcíny LYSVULPEN u ovcí

Ovce č.	Aplikace LYSVULPENU per orálně	Klinika (180 dní)	Odběry krve (IU/ml)				PITVA - IF			
			0 - inic	1 měs.	3 měs.	6 měs.	mozková kůra	mozeček	prodl. mícha	Amon. roh
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,35	1,28	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,60	2,33	2,05	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	1,98	1,77	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,66	1,58	1,36	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,90	1,88	1,75	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,93	0,90	0,81	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	2,00	1,90	neg.	neg.	neg.	neg.
8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,13	2,05	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,52	1,40	1,33	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,15	1,10	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
Průměr		neg.	0	1,76	1,657	1,513	neg.	neg.	neg.	neg.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. INOCUITATE

Oi





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

CUPRINS

A. INTRODUCERE

B. CERINȚE GENERALE

C. TESTE DE LABORATOR

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

A. INTRODUCERE

Această secțiune sumarizează rezultatele inocuității vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet., care conține virusul vaccinului atenuat contra rabiei din tulpina SAD Bern, după administrarea acestui preparat veterinar imunobiologic oilor.

B. CERINȚE GENERALE

1. Testul de inocuitate a fost efectuat la oi.
2. Doza recomandată a fost administrată în vederea efectuării testului de inocuitate.
Testul de inocuitate a fost efectuat în conformitate cu Farmacopeea Europeană și recomandările WHO.
3. În scopurile efectuării testului de inocuitate a fost pregătit un lot în conformitate cu documentația de înregistrare.

C. TESTE DE LABORATOR

Testele de laborator au fost efectuate în conformitate cu Farmacopeea Europeană 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) și în conformitate cu recomandările WHO.





C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată

Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la oi

Rezumat:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la 10 oi. După 180 de zile de la administrarea vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. nu au fost înregistrate simptome de rabie la animalele experimentale. După încheierea perioadei de observație, toate animalele experimentale au fost sacrificate, iar virusul rabiei nu a fost detectat prin metoda imunofluorescenței directe în cortexul cerebral, în cerebel, în bulbul rahidian sau în cornul lui Ammon. Rabia nu a fost detectată la niciunul dintre animalele testate. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă în perioada de 1, 2, 3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Analiză:

Oile pot fi o specie nevizată în consumarea momelii Lysvulpen por. ad us. vet. În general, oile sunt sensibile moderat la infectarea cu rabie. Acest lucru a fost demonstrat și prin crearea de anticorpi în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. pe parcursul a 6 luni de la administrarea acestuia. Infectarea cu rabie nu a fost detectată nici în perioada de observație de 180 de zile, nici la examinarea creierului în vederea identificării antigenului rabic. Perioada de observare de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor de rabie la diferite animale și păsări. La diagnosticarea de laborator a rabiei a fost utilizat, de asemenea, un test extrem de sensibil și specific de imunofluorescență directă.

Concluzie:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet s-a dovedit a fi inofensiv la administrarea a unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată administrate oral la oi. Această concluzie este susținută de LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

4



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

rezultatele monitorizării clinice a animalelor experimentale pe o perioadă de 180 de zile în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a animalelor experimentale în vederea detectării prezenței virusului rabiei.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

5



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmăției, Str. Bogdan Vodă nr. 5, ap. 17, tel: (+04) 0262-31003; Brașov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

**Lista și caracteristica animalelor supuse testului de inocuitate
(specie – oi)**

Nr. ord. oaie	Nr. de identificare oaie	Caracteristica animalelor			Notă
		vârstă	sex	starea de sănătate	
1	O1	3 luni	♀	bună	
2	O2	3 luni	♂	bună	
3	O3	3 luni	♂	bună	
4	O4	3 luni	♀	bună	
5	O5	3 luni	♀	bună	
6	O6	3 luni	♂	bună	
7	O7	3 luni	♂	bună	
8	O8	3 luni	♀	bună	
9	O9	1 an	♂	bună	
10	O10	1 an	♀	bună	





Protocolul de testare

a) Descrierea metodelor utilizate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

- observarea și înregistrarea reacțiilor adverse, a simptomelor clinice asociate cu rabia - schimbări în comportament, schimbări în expresia vocală, pareza musculară, paralizia mușchilor, acumularea și secreția de salivă, paralizia grupelor de mușchi care duce la moartea animalului.

a2) Diagnosticarea “post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

- test FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentelor și echipamentelor utilizate:

- seringă 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, lamelă de analiză
- instrumente de autopsie
- frigider 2 – 8 °C, congelator – 18 °C, unitate de congelare – 80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- lamele din PVC pentru culturi de țesuturi
- pipete pentru manipularea țesuturilor

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet de notițe pentru înregistrarea zilnică a stării clinice a animalelor
- materialul testat MSV Bio 10 + 1 într-o doză de vaccin de zece ori mai mare decât doza maximă recomandată
- conjugat antirabic

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

7





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și a testului FAVN

d) Utilizarea animalelor testate:

- d1) Specie - oi
- d2) Categoria animalelor - de la 3 luni la un an
- d3) Originea animalelor - animale din Republica Cehă
- d4) Identificarea animalelor - adăpostire individuală, crotalii
- d5) Numărul de animale - 10 buc.
- d6) Condiții de deținere și adăpostire a animalelor - animalele experimentale au fost adăpostite individual, câte unul într-o boxă
- d7) Hrănirea animalelor - animalele au primit hrană de 3x pe zi, dimineața, la prânz și seara. Hrana a constat în amestecuri de furaje speciale pentru oi din această categorie și fân.
- d8) Denumirea proprietarului de animale- Bioveta, a. s., cu sediul în Ivanovice na Hané
- d9) Denumirea echipamentului de testare - Bioveta, a.s., cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, modul de administrare, schema de administrare, monitorizarea temperaturii și a reacțiilor clinice adverse

Doza administrată - 2,0 ml de virus de rabie testat

Modul de administrare - oral, artificial, cu ajutorul unei seringi PVC cu duză de cauciuc

Schema de administrare - virusul testat a fost administrat în mod artificial o singură dată

Monitorizarea reacțiilor adverse - animalele experimentale au fost monitorizate zilnic și s-au înregistrat toate reacțiile neobișnuite sau nedorite ale animalelor - avându-se în vedere prezența rabiei.

Diagnosticarea "post mortem" a rabiei - rabia a fost examinată în cortexul cerebral, cerebel, bulbul rahidian, și cornul lui Ammon prin metoda imunofluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973).





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Determinarea anticorpilor antirabici - anticorpii antirabici au fost determinați din serurile animalelor testate în intervale de timp specificate. Anticorpii antirabici au fost determinați pe baza testului FAVN (Cliquet and Barrat, 1996)

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei care a efectuat testarea:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Născut: 26 noiembrie 1953

Educație: 1969 - 1973: Liceul Tehnic Agricol - profil veterinar, Kroměříž

1973 - 1979: Universitatea Veterinară, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, practică

1979 - 1980: serviciul militar în cadrul serviciului veterinar de frontieră

1980 - 1987: controlor tehnic independent în cadrul Departamentului de control și management al calității

1985 - 1990: studii de doctorat în domeniul științific epizootologie și igienă veterinară

1987 - 1995: șeful Departamentului de control și management al calității

1995 - 1998: director de producție în cadrul societății Bioveta, s.r.o.

1998 - 2003: directorul secției de producție și dezvoltare a medicamentelor și produselor biologice veterinare

2003-2007: directorul secției de inovare și dezvoltare a produselor biologice

de la 01.01. 2007: director adjunct, manager de proiect în cadrul societății Bioveta, a.s.

Calitatea de membru în organizații profesionale:

Societatea Cehoslovacă pentru Microbiologie - din 1980

Societatea Științifică Cehoslovacă de Micologie - din 1980

Societatea Cehoslovacă de Imunologie - din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

9



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Autor sau coautor al unui număr de 149 de publicații de specialitate.

Certificate de autor:

Autor sau coautor al unui număr de 25 de brevete.

Rapoarte finale:

Autor sau coautor al unui număr de 23 de rapoarte finale ale produselor introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Testarea vaccinului LYSVULPEN la oi

Oaia nr.	Administrare orală LYSVULPEN	Clinică (180 zile)	Prelevare de sânge (IU/ml)				AUTOPSIE - IF			
			0 - iniț	1 luni	3 luni	6 luni	cortex cerebral	cerebel	bulb rahidian	cornul lui Ammon
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,35	1,28	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,60	2,33	2,05	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	1,98	1,77	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,66	1,58	1,36	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,90	1,88	1,75	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,93	0,90	0,81	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,15	2,00	1,90	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	2,13	2,05	1,93	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,52	1,40	1,33	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,15	1,10	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
Medie		neg.	0	1,76	1,657	1,513	neg.	neg.	neg.	neg.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. NEŠKODNOST

Skot



OBSAH

A. ÚVOD

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

C. LABORATORNÍ TESTY

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky



A. ÚVOD

Tato část sumarizuje výsledky neškodnosti vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet., obsahující atenuovaný vakcinační virus vztekliny kmene SAD Bern, po aplikaci tohoto veterinárního imunobiologického preparátu skotu.

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

1. Zkouška neškodnosti byla provedena u skotu.
2. Doporučená dávka byla aplikována za účelem provedení zkoušky neškodnosti.
Zkouška neškodnosti byla provedena v souladu s Evropským lékopisem a doporučením WHO.
3. Pro účely testu neškodnosti byla připravena šarže v souladu s registrační dokumentací.

C. LABORATORNÍ TESTACE

Laboratorní testy byly provedeny v souladu s Evropským lékopisem, 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) a doporučením WHO.

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky

Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky u skotu

Souhrn:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet. byla testována po podání desetinásobné maximální doporučené dávky u 10 ks skotu. Během 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. nebyly zaznamenány žádné příznaky vztekliny u pokusných zvířat. Po uběhnutí pozorovací doby byla všechna pokusná zvířata utracena a virus vztekliny nebyl prokázán metodou přímé imunofluorescence v mozkové kůře, mozečku, prodloužené míše a v Amonově rohu. V žádném případě nebyla prokázána vzteklina u pokusných zvířat. Stanovení antirabických protilátek bylo v období 1, 2, 3 a 6 měsíců po aplikaci viru pozitivní.

Diskuse:

Skot může být necílovým druhem v přijímání návnad Lysvulpen por. ad us. vet. Obecně je skot středně vnímavý k onemocnění vzteklinou. To bylo prokázáno i ve vytvoření si protilátek po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. v průběhu 6 měsíců po její aplikaci. Též nebylo prokázáno onemocnění vzteklinou v průběhu pozorovací doby 180 dní a následným vyšetřením mozku na přítomnost vzteklinového antigenu nebyla laboratorně též vzteklina prokázána. Pozorovací doba 180 dní je dostatečná pro projevení se příznaků vztekliny u všech druhů zvířat i ptáků. Pro laboratorní diagnostiku vztekliny byl též použit vysoce citlivý a specifický test přímé imunofluorescence.

Závěr:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet se prokázala být neškodná v desetinásobné maximální doporučené dávce aplikované per os skotu. Tento závěr je podložen výsledky klinického sledování pokusných zvířat po dobu 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. a následným vyšetřením mozku pokusných zvířat na přítomnost viru vztekliny.

**Seznam a charakteristika zvířat zahrnutých do zkoušky neškodnosti
(druh – Skot)**

Pořadové číslo skotu	Ident. číslo skotu	Charakteristika zvířat			Poznámka
		věk	pohlaví	zdravotní kondice	
1	S1	3 měsíce	♀	dobrá	
2	S2	3 měsíce	♀	dobrá	
3	S3	3 měsíců	♂	dobrá	
4	S4	3 měsíce	♂	dobrá	
5	S5	3 měsíců	♀	dobrá	
6	S6	3 měsíce	♂	dobrá	
7	S7	3 měsíců	♀	dobrá	
8	S8	3 měsíce	♀	dobrá	
9	S9	1 rok	♂	dobrá	
10	S10	1 rok	♂	dobrá	

Testační protokol

a) Popis užitých metod:

a1) Monitorování a vyhodnocení nežádoucích reakcí

– pozorování nežádoucích reakcí a zaznamenávání nežádoucích reakcí, klinických symptomů spojených se vzteklinou – změna chování, změna hlasového projevu, paréza svalů, paralýza svalů, hromadění a vylučování slin, paralýza svalových skupin vedoucích ke smrti zvířete.

a2) “Post mortem” diagnostika vztekliny

– přímá imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Stanovení antirabických protilátek

– FAVN test – detekce antirabických protilátek (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Popis použitých nástrojů a zařízení:

- injekční stříkačka 2 ml s aplikátorem
- imunofluorescenční mikroskop, podložní sklíčka
- pitevní nářadí
- lednička 2 – 8 °C, mraznička – 18 °C, hlubokomrazicí pult – 80 °C
- termostat 37 °C s 5% CO₂
- umělohmotné destičky pro práci s tkáňovými kulturami
- pipety pro práci s tkáňovými kulturami

c) Popis použitého materiálu:

- notes na zaznamenávání denního klinického stavu zvířat
- testovaný materiál MSV Bio 10 + 1 v desetinásobku maximálního používaného vakcinačního titru
- konjugát antirabický
- standardy k provádění přímé imunofluorescence a FAVN testu

d) Použití testovaných zvířat:

- d1) Druh - skot
- d2) Kategorie zvířat - od 3 měsíců do 1 roku
- d3) Původ zvířat - zvířata z České republiky
- d4) Identifikace zvířat - ušní známky
- d5) Počet zvířat - 10 ks

- d6) **Podmínky pro držení a umístění zvířat** - pokusná zvířata byla umístěna individuálně v boxech po 1 ks
- d7) **Krmení zvířat** - zvířata dostávala krmení 3x denně, ráno, v poledne a večer. Strava spočívala ze speciálních krmných směsí pro skot těchto kategorií a lučního sena.
- d8) **Jméno vlastníka zvířat** - Bioveta, a. s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- d9) **Jméno testovacího zařízení** - Bioveta, a.s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- e) **Aplikační dávka, způsob aplikace, aplikační schéma, teplotní monitoring a sledování klinických nežádoucích reakcí**
- Aplikační dávka** - 2,0 ml testovaného viru vztekliny
- Způsob aplikace** - per os, uměle, za pomoci umělohmotné stříkačky s gumovým nástavcem
- Aplikační schéma** - testovaný virus byl aplikován umělým způsobem jednorázově
- Pozorování nežádoucích reakcí** - pokusná zvířata byla sledována denně a byly zaznamenávány všechny neobvyklé či nežádoucí reakce zvířat se zaměřením na přítomnost onemocnění vzteklinou.
- “Post mortem” diagnostika vztekliny** - vzteklinou byla diagnostikována z mozkové kůry, mozečku, prodloužené míchy a Amonova rohu metodou přímé imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).
- Stanovení antirabických protilátek** - antirabické protilátky byly stanovovány ze sér testovaných zvířat v stanovených intervalech. Antirabické protilátky byly stanovovány metodou FAVN testu (Cliquet and Barrat, 1996)

Jméno, adresa, pozice a kvalifikace zkoušející osoby:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Narozen: 26. listopadu 1953

Vzdělání: 1969 - 1973: Střední zemědělská technická škola - obor veterinární, Kroměříž

1973 - 1979: Vysoká škola veterinární, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, nástupní praxe

1979 - 1980: vojenská prezenční služba u veterinární služby pohraniční stráže

1980 - 1987: samostatný technický kontrolor Útvaru kontroly a řízení jakosti



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

1985 - 1990: kandidátské disertační studium vědního oboru epizootologie a
zoohygienu

1987 - 1995: vedoucí Útvaru kontroly a řízení jakosti

1995 - 1998: výrobní ředitel Biovety, s.r.o.

1998 - 2003: ředitel sekce výroby a vývoje veterinárních biopreparátů a léčiv

2003-2007: ředitel sekce inovace a vývoje biologických přípravků

od 1.1. 2007: zástupce ředitele společnosti, projekt manažer, společnost Bioveta, a.s.

Členství v odborných organizacích:

Československá společnost mikrobiologická - od r. 1980

Československá vědecká společnost pro mykologii - od r. 1980

Československá imunologická společnost - od r. 1981

Odborná činnost:

Publikace:

Autor nebo spoluautor celkem 149 odborných publikací.

Autorská osvědčení:

Autor nebo spoluautor 25 patentů.

Závěrečné oponentní zprávy:

Autor nebo spoluautor 23 závěrečných zpráv přípravků zavedených do praxe.

Odborná specializace: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Ověření vakcíny LYSVULPEN u skotu

Skot č.	Aplikace LYSVULPENU per orálně	Klinika (180 dní)	Odběry krve (IU/ml)				PITVA - IF			
			0 - inic	1 měs.	3 měs.	6 měs.	mozková kůra	mozeček	prodl. mícha	Amon. roh
1	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,99	0,85	0,77	neg.	neg.	neg.	neg.
2	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,15	1,05	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
3	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,65	0,77	0,60	neg.	neg.	neg.	neg.
4	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,21	1,19	1,10	neg.	neg.	neg.	neg.
5	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,17	1,10	1,00	neg.	neg.	neg.	neg.
6	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,88	0,93	0,90	neg.	neg.	neg.	neg.
7	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,35	1,15	1,09	neg.	neg.	neg.	neg.
8	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,45	1,22	1,19	neg.	neg.	neg.	neg.
9	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,90	0,88	neg.	neg.	neg.	neg.
10	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,10	1,05	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
Průměr		neg.	0	1,09	1,021	0,943	neg.	neg.	neg.	neg.

Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. INOCUITATE

Bovine

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

1



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmăției, Str. Bogdan Vodă nr. 5, ap. 17, tel: (+04) 0262-31003; Brașov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

CUPRINS

A. INTRODUCERE

B. CERINȚE GENERALE

C. TESTE DE LABORATOR

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

A. INTRODUCERE

Această secțiune sumarizează rezultatele inocuității vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet., care conține virusul vaccinului atenuat contra rabiei din tulpina SAD Bern, după administrarea acestui preparat veterinar imunobiologic bovinelor.

B. CERINȚE GENERALE

1. Testul de inocuitate a fost efectuat la bovine.
2. Doza recomandată a fost administrată în vederea efectuării testului de inocuitate.
Testul de inocuitate a fost efectuat în conformitate cu Farmacopeea Europeană și recomandările WHO.
3. În scopurile efectuării testului de inocuitate a fost pregătit un lot în conformitate cu documentația de înregistrare.

C. TESTE DE LABORATOR

Testele de laborator au fost efectuate în conformitate cu Farmacopeea Europeană 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) și în conformitate cu recomandările WHO.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată

Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la bovine

Rezumat:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la 10 bovine. După 180 de zile de la administrarea vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. nu au fost înregistrate simptome de rabie la animalele experimentale. După încheierea perioadei de observație, toate animalele experimentale au fost sacrificate, iar virusul rabiei nu a fost detectat prin metoda imunofluorescenței directe în cortexul cerebral, în cerebel, în bulbul rahidian sau în cornul lui Ammon. Rabia nu a fost detectată la niciunul dintre animalele testate. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă în perioada de 1, 2, 3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Analiză:

Bovinele pot fi o specie nevizată în consumarea momelii Lysvulpen por. ad us. vet. În general, bovinele sunt sensibile moderat la infectarea cu rabie. Acest lucru a fost demonstrat și prin crearea de anticorpi în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. pe parcursul a 6 luni de la administrarea acestuia. Infectarea cu rabie nu a fost detectată nici în perioada de observație de 180 de zile, nici la examinarea creierului în vederea identificării antigenului rabic. Perioada de observare de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor de rabie la diferite animale și păsări. La diagnosticarea de laborator a rabiei a fost utilizat, de asemenea, un test extrem de sensibil și specific de imunofluorescență directă.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Concluzie:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet s-a dovedit a fi inofensiv la administrarea a unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată administrate oral la bovine Această concluzie este susținută de rezultatele monitorizării clinice a animalelor experimentale pe o perioadă de 180 de zile în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a animalelor experimentale în vederea detectării prezenței virusului rabiei.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

**Lista și caracteristica animalelor supuse testului de inocuitate
(specie – Bovine)**

Nr. ord. bovină	Nr. de identificare bovină	Caracteristica animalelor			Notă
		vârstă	sex	starea de sănătate	
1	B1	3 luni	♀	bună	
2	B2	3 luni	♀	bună	
3	B3	3 luni	♂	bună	
4	B4	3 luni	♂	bună	
5	B5	3 luni	♀	bună	
6	B6	3 luni	♂	bună	
7	B7	3 luni	♀	bună	
8	B8	3 luni	♀	bună	
9	B9	1 an	♂	bună	
10	B10	1 an	♂	bună	





Protocolul de testare

a) Descrierea metodelor utilizate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

- observarea și înregistrarea reacțiilor adverse, a simptomelor clinice asociate cu rabia - schimbări în comportament, schimbări în expresia vocală, pareza musculară, paralizia mușchilor, acumularea și secreția de salivă, paralizia grupelor de mușchi care duce la moartea animalului.

a2) Diagnosticarea “post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

- test FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentelor și echipamentelor utilizate:

- seringă 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, lamelă de analiză
- instrumente de autopsie
- frigider 2 – 8 °C, congelator – 18 °C, unitate de congelare – 80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- lamele din PVC pentru culturi de țesuturi
- pipete pentru manipularea țesuturilor

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet de notițe pentru înregistrarea zilnică a stării clinice a animalelor
- materialul testat MSV Bio 10 + 1 într-o doză de vaccin de zece ori mai mare decât doza maximă recomandată
- conjugat antirabic

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

7





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și a testului FAVN

d) Utilizarea animalelor testate:

- d1) Specie - bovine
d2) Categoria animalelor - de la 3 luni la un an
d3) Originea animalelor - animale din Republica Cehă
d4) Identificarea animalelor - crotalii
d5) Numărul de animale - 10 buc.
d6) Condiții de deținere și adăpostire a animalelor - animalele experimentale au fost adăpostite individual, câte unul într-o boxă
d7) Hrănirea animalelor - animalele au primit hrană de 3x pe zi, dimineața, la prânz și seara. Hrana a constat în amestecuri de furaje speciale pentru bovine din această categorie și fân.
d8) Denumirea proprietarului de animale - Bioveta, a. s., cu sediul în Ivanovice na Hané
d9) Denumirea echipamentului de testare - Bioveta, a.s., cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, modul de administrare, schema de administrare, monitorizarea temperaturii și a reacțiilor clinice adverse

Doza administrată - 2,0 ml de virus de rabie testat

Modul de administrare - oral, artificial, cu ajutorul unei seringi PVC cu duză de cauciuc

Schema de administrare - virusul testat a fost administrat în mod artificial o singură dată

Monitorizarea reacțiilor adverse - animalele experimentale au fost monitorizate zilnic și s-au înregistrat toate reacțiile neobișnuite sau nedorite ale animalelor - avându-se în vedere prezența rabiei.

Diagnosticarea "post mortem" a rabiei - rabia a fost examinată în cortexul cerebral, cerebel, bulbul rahidian, și cornul lui Ammon prin metoda imunofluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973).





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Determinarea anticorpilor antirabici - anticorpii antirabici au fost determinați din serurile animalelor testate în intervale de timp specificate. Anticorpii antirabici au fost determinați pe baza testului FAVN (Cliquet and Barrat, 1996)

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei care a efectuat testarea:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Născut: 26 noiembrie 1953

Educație: 1969 - 1973: Liceul Tehnic Agricol - profil veterinar, Kroměříž

1973 - 1979: Universitatea Veterinară, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, practică

1979 - 1980: serviciul militar în cadrul serviciului veterinar de frontieră

1980 - 1987: controlor tehnic independent în cadrul Departamentului de control și management al calității

1985 - 1990: studii de doctorat în domeniul științific epizootologie și igienă veterinară

1987 - 1995: șeful Departamentului de control și management al calității

1995 - 1998: director de producție în cadrul societății Bioveta, s.r.o.

1998 - 2003: directorul secției de producție și dezvoltare a medicamentelor și produselor biologice veterinare

2003-2007: directorul secției de inovare și dezvoltare a produselor biologice

de la 01.01. 2007: director adjunct, manager de proiect în cadrul societății Bioveta, a.s.

Calitatea de membru în organizații profesionale:

Societatea Cehoslovacă pentru Microbiologie - din 1980

Societatea Științifică Cehoslovacă de Micologie - din 1980

Societatea Cehoslovacă de Imunologie - din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

9



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Autor sau coautor al unui număr de 149 de publicații de specialitate.

Certificate de autor:

Autor sau coautor al unui număr de 25 de brevete.

Rapoarte finale:

Autor sau coautor al unui număr de 23 de rapoarte finale ale produselor introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

10



Ciuj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmățel, Str. Bogdan Vodă nr. 5, ap. 17, tel: (+04) 0262-31003; Brașov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Testarea vaccinului LYSVULPEN la bovine

Bovina nr.	Administrare orală LYSVULPEN	Clinică (180 zile)	Prelevare de sânge (IU/ml)				AUTOPSIE - IF			
			0 - iniț	1 luni	3 luni	6 luni	cortex cerebral	cerebel	bulb rahidian	cornul lui Ammon
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,99	0,85	0,77	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,15	1,05	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,65	0,77	0,60	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,21	1,19	1,10	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,17	1,10	1,00	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,88	0,93	0,90	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,35	1,15	1,09	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,45	1,22	1,19	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,90	0,88	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,10	1,05	0,95	neg.	neg.	neg.	neg.
Medie		neg.	0	1,09	1,021	0,943	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

12



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmăției, Str. Bogdan Vodă nr.5, ap.17, tel: (+04) 0262-31003; Braşov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. NEŠKODNOST

Koně



OBSAH

A. ÚVOD

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

C. LABORATORNÍ TESTY

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky



A. ÚVOD

Tato část sumarizuje výsledky neškodnosti vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet., obsahující atenuovaný vakcinační virus vztekliny kmene SAD Bern, po aplikaci tohoto veterinárního imunobiologického preparátu koním.

B. VŠEOBECNÉ POŽADAVKY

1. Zkouška neškodnosti byla provedena u koní.
2. Doporučená dávka byla aplikována za účelem provedení zkoušky neškodnosti.
Zkouška neškodnosti byla provedena v souladu s Evropským lékopisem a doporučením WHO.
3. Pro účely testu neškodnosti byla připravena šarže v souladu s registrační dokumentací.

C. LABORATORNÍ TESTACE

Laboratorní testy byly provedeny v souladu s Evropským lékopisem, 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) a doporučením WHO.

C.1. Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky

Neškodnost po aplikaci desetinásobné maximální doporučené dávky u koní

Souhrn:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet. byla testována po podání desetinásobné maximální doporučené dávky u 10 ks koní. Během 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. nebyly zaznamenány žádné příznaky vztekliny u pokusných zvířat. Po uběhnutí pozorovací doby byla všechna pokusná zvířata utracena a virus vztekliny nebyl prokázán metodou přímé imunofluorescence v mozkové kůře, mozečku, prodloužené míše a v Amonově rohu. V žádném případě nebyla prokázána vzteklina u pokusných zvířat. Stanovení antirabických protilátek bylo v období 1, 2, 3 a 6 měsíců po aplikaci viru pozitivní.

Diskuse:

Koně mohou být necílovým druhem v přijímání návnad Lysvulpen por. ad us. vet. Obecně jsou koně středně vnímaví k onemocnění vzteklinou. To bylo prokázáno i ve vytvoření si protilátek po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. v průběhu 6 měsíců po její aplikaci. Též nebylo prokázáno onemocnění vzteklinou v průběhu pozorovací doby 180 dní a následným vyšetřením mozku na přítomnost vzteklinového antigenu nebyla laboratorně též vzteklina prokázána. Pozorovací doba 180 dní je dostatečná pro projevení se příznaků vztekliny u všech druhů zvířat i ptáků. Pro laboratorní diagnostiku vztekliny byl též použit vysoce citlivý a specifický test přímé imunofluorescence.

Závěr:

Vakcína Lysvulpen por. ad us. vet se prokázala být neškodná v desetinásobné maximální doporučené dávce aplikované per os koním. Tento závěr je podložen výsledky klinického sledování pokusných zvířat po dobu 180 dní po aplikaci vakcíny Lysvulpen por. ad us. vet. a následným vyšetřením mozku pokusných zvířat na přítomnost viru vztekliny.

**Seznam a charakteristika zvířat zahrnutých do zkoušky neškodnosti
(druh – koně)**

Pořadové číslo koně	Ident. číslo koně	Charakteristika zvířat			Poznámka
		věk	pohlaví	zdravotní kondice	
1	K1	3 měsíce	♂	dobrá	
2	K2	3 měsíce	♀	dobrá	
3	K3	3 měsíců	♂	dobrá	
4	K4	3 měsíce	♂	dobrá	
5	K5	3 měsíců	♀	dobrá	
6	K6	3 měsíce	♂	dobrá	
7	K7	3 měsíců	♀	dobrá	
8	K8	3 měsíce	♀	dobrá	
9	K9	1 rok	♂	dobrá	
10	K10	1 rok	♀	dobrá	

Testační protokol

a) Popis užitých metod:

a1) Monitorování a vyhodnocení nežádoucích reakcí

– pozorování nežádoucích reakcí a zaznamenávání nežádoucích reakcí, klinických symptomů spojených se vzteklinou – změna chování, změna hlasového projevu, paréza svalů, paralýza svalů, hromadění a vylučování slin, paralýza svalových skupin vedoucích ke smrti zvířete.

a2) “Post mortem” diagnostika vztekliny

– přímá imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Stanovení antirabických protilátek

– FAVN test – detekce antirabických protilátek (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Popis použitých nástrojů a zařízení:

- injekční stříkačka 2 ml s aplikátorem
- imunofluorescenční mikroskop, podložní sklíčka
- pitevní nářadí
- lednička 2 – 8 °C, mraznička – 18 °C, hlubokomrazicí pult – 80 °C
- termostat 37 °C s 5% CO₂
- umělohmotné destičky pro práci s tkáňovými kulturami
- pipety pro práci s tkáňovými kulturami

c) Popis použitého materiálu:

- notes na zaznamenávání denního klinického stavu zvířat
- testovaný materiál MSV Bio 10 + 1 v desetinásobku maximálního používaného vakcinačního titru
- konjugát antirabický
- standardy k provádění přímé imunofluorescence a FAVN testu

d) Použití testovaných zvířat:

- d1) Druh - koně
- d2) Kategorie zvířat - od 3 měsíců do 1 roku
- d3) Původ zvířat - zvířata z České republiky
- d4) Identifikace zvířat - individuální ustájení, tetování
- d5) Počet zvířat - 10 ks

- d6) **Podmínky pro držení a umístění zvířat** - pokusná zvířata byla umístěna individuálně v boxech po 1 ks
- d7) **Krmení zvířat** - zvířata dostávala krmení 3x denně, ráno, v poledne a večer. Strava spočívala ze speciálních krmných směsí pro koně těchto kategorií a lučního sena.
- d8) **Jméno vlastníka zvířat** - Bioveta, a. s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- d9) **Jméno testovacího zařízení** - Bioveta, a.s., se sídlem v Ivanovicích na Hané
- e) **Aplikační dávka, způsob aplikace, aplikační schéma, teplotní monitoring a sledování klinických nežádoucích reakcí**
- Aplikační dávka** - 2,0 ml testovaného viru vztekliny
- Způsob aplikace** - per os, uměle, za pomoci umělohmotné stříkačky s gumovým nástavcem
- Aplikační schéma** - testovaný virus byl aplikován umělým způsobem jednorázově
- Pozorování nežádoucích reakcí** - pokusná zvířata byla sledována denně a byly zaznamenávány všechny neobvyklé či nežádoucí reakce zvířat se zaměřením na přítomnost onemocnění vzteklinou.
- “Post mortem” diagnostika vztekliny** - vzteklinu byla diagnostikována z mozkové kůry, mozečku, prodloužené míchy a Amonova rohu metodou přímé imunofluorescence (Dean and Abelseth, 1973).
- Stanovení antirabických protilátek** - antirabické protilátky byly stanovovány ze sér testovaných zvířat v stanovených intervalech. Antirabické protilátky byly stanovovány metodou FAVN testu (Cliquet and Barrat, 1996)

Jméno, adresa, pozice a kvalifikace zkoušející osoby:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Narozen: 26. listopadu 1953

Vzdělání: 1969 - 1973: Střední zemědělská technická škola - obor veterinární, Kroměříž
1973 - 1979: Vysoká škola veterinární, Brno
1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, nástupní praxe
1979 - 1980: vojenská prezenční služba u veterinární služby pohraniční stráže
1980 - 1987: samostatný technický kontrolor Útvaru kontroly a řízení jakosti



1985 - 1990: kandidátské disertační studium vědního oboru epizootologie a
zoohygienu

1987 - 1995: vedoucí Útvaru kontroly a řízení jakosti

1995 - 1998: výrobní ředitel Biovety, s.r.o.

1998 - 2003: ředitel sekce výroby a vývoje veterinárních biopreparátů a léčiv

2003-2007: ředitel sekce inovace a vývoje biologických přípravků

od 1.1. 2007: zástupce ředitele společnosti, projekt manažer, společnost Bioveta, a.s.

Členství v odborných organizacích:

Československá společnost mikrobiologická - od r. 1980

Československá vědecká společnost pro mykologii - od r. 1980

Československá imunologická společnost - od r. 1981

Odborná činnost:

Publikace:

Autor nebo spoluautor celkem 149 odborných publikací.

Autorská osvědčení:

Autor nebo spoluautor 25 patentů.

Závěrečné oponentní zprávy:

Autor nebo spoluautor 23 závěrečných zpráv přípravků zavedených do praxe.

Odborná specializace: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Ověření vakcíny LYSVULPEN u koní

Kůň č.	Aplikace LYSVULPENU per orálně	Klinika (180 dní)	Odběry krve (IU/ml)				PITVA - IF			
			0 - <i>inici</i>	1 <i>měs.</i>	3 <i>měs.</i>	6 <i>měs.</i>	<i>mozková kůra</i>	<i>mozeček</i>	<i>prodl. mícha</i>	<i>Amon. roh</i>
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,89	0,81	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,21	1,19	1,15	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,90	0,83	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,55	1,39	1,25	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,30	1,25	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,88	0,75	neg.	neg.	neg.	neg.
7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,19	1,15	neg.	neg.	neg.	neg.
8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,35	1,28	1,16	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,88	0,80	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,90	0,85	0,83	neg.	neg.	neg.	neg.
Průměr		neg.	0	1,163	1,075	0,998	neg.	neg.	neg.	neg.



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

III. INOCUITATE

Cai





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

CUPRINS

A. INTRODUCERE

B. CERINȚE GENERALE

C. TESTE DE LABORATOR

C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

A. INTRODUCERE

Această secțiune sumarizează rezultatele inocuității vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet., care conține virusul vaccinului atenuat contra rabiei din tulpina SAD Bern, după administrarea acestui preparat veterinar imunobiologic cailor.

B. CERINȚE GENERALE

1. Testul de inocuitate a fost efectuat la cai.
2. Doza recomandată a fost administrată în vederea efectuării testului de inocuitate.
Testul de inocuitate a fost efectuat în conformitate cu Farmacopeea Europeană și recomandările WHO.
3. În scopurile efectuării testului de inocuitate a fost pregătit un lot în conformitate cu documentația de înregistrare.

C. TESTE DE LABORATOR

Testele de laborator au fost efectuate în conformitate cu Farmacopeea Europeană 01/2008:0746 "Rabies vaccine (live, oral) for foxes (Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem) și în conformitate cu recomandările WHO.



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

4



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmatiei, Str.Bogdan Vodă nr.5,ap.17, tel: (+04) 0262-31003; Braşov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



C.1. Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată

Inocuitatea în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la cai

Rezumat:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat în urma administrării unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată la 10 cai. După 180 de zile de la administrarea vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. nu au fost înregistrate simptome de rabie la animalele experimentale. După încheierea perioadei de observație, toate animalele experimentale au fost sacrificate, iar virusul rabiei nu a fost detectat prin metoda imunofluorescenței directe în cortexul cerebral, în cerebel, în bulbul rahidian sau în cornul lui Ammon. Rabia nu a fost detectată la niciunul dintre animalele testate. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă în perioada de 1, 2, 3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Analiză:

Caii pot fi o specie nevizată în consumarea momelii Lysvulpen por. ad us. vet. În general, caii sunt sensibili moderat la infectarea cu rabie. Acest lucru a fost demonstrat și prin crearea de anticorpi în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. pe parcursul a 6 luni de la administrarea acestuia. Infectarea cu rabie nu a fost detectată nici în perioada de observație de 180 de zile, nici la examinarea creierului în vederea identificării antigenului rabic. Perioada de observare de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor de rabie la diferite animale și păsări. La diagnosticarea de laborator a rabiei a fost utilizat, de asemenea, un test extrem de sensibil și specific de imunofluorescență directă.

Concluzie:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet s-a dovedit a fi inofensiv la administrarea a unei doze de 10 ori mai mari decât doza maximă recomandată administrate oral la cai. Această concluzie este susținută de LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

5





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

rezultatele monitorizării clinice a animalelor experimentale pe o perioadă de 180 de zile în urma administrării vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a animalelor experimentale în vederea detectării prezenței virusului rabiei.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

**Lista și caracteristica animalelor supuse testului de inocuitate
(specie – cai)**

Nr. ord. cal	Nr. de identificare cal	Caracteristica animalelor			Notă
		vârstă	sex	starea de sănătate	
1	C1	3 luni	♂	bună	
2	C2	3 luni	♀	bună	
3	C3	3 luni	♂	bună	
4	C4	3 luni	♂	bună	
5	C5	3 luni	♀	bună	
6	C6	3 luni	♂	bună	
7	C7	3 luni	♀	bună	
8	C8	3 luni	♀	bună	
9	C9	1 an	♂	bună	
10	C10	1 an	♀	bună	





Protocolul de testare

a) Descrierea metodelor utilizate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

- observarea și înregistrarea reacțiilor adverse, a simptomelor clinice asociate cu rabia - schimbări în comportament, schimbări în expresia vocală, pareza musculară, paralizia mușchilor, acumularea și secreția de salivă, paralizia grupelor de mușchi care duce la moartea animalului.

a2) Diagnosticarea “post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973).

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

- test FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet and Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentelor și echipamentelor utilizate:

- seringă 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, lamelă de testare
- instrumente de autopsie
- frigider 2 – 8 °C, congelator – 18 °C, unitate de congelare – 80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- lamele din PVC pentru culturi de țesuturi
- pipete pentru manipularea țesuturilor

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet de notițe pentru înregistrarea zilnică a stării clinice a animalelor
- materialul testat MSV Bio 10 + 1 într-o doză de vaccin de zece ori mai mare decât doza maximă recomandată





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

- conjugat antirabic
- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și a testului FAVN

d) Utilizarea animalelor testate:

- d1) Specie - cai
- d2) Categoria animalelor - de la 3 luni la 1 an
- d3) Originea animalelor - animale din Republica Cehă
- d4) Identificarea animalelor - adăpostire individuală, tatuaje
- d5) Numărul de animale - 10 buc.
- d6) Condiții de deținere și adăpostire a animalelor - animalele experimentale au fost adăpostite individual, câte unul într-o boxă
- d7) Hrănirea animalelor - animalele au primit hrană de 3x pe zi
- dimineața, la prânz și seara. Hrana a constat în amestecuri de furaje speciale pentru cai din această categorie și fân.
- d8) Denumirea proprietarului de animale - Bioveta, a. s., cu sediul în Ivanovice na Hané
- d9) Denumirea echipamentului de testare - Bioveta, a.s., cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, modul de administrare, schema de administrare, monitorizarea temperaturii și a reacțiilor clinice adverse

- Doza administrată** - 2,0 ml de virus de rabie testat
- Modul de administrare** - oral, artificial, cu ajutorul unei seringi PVC cu duză de cauciuc
- Schema de administrare** - virusul testat a fost administrat în mod artificial o singură dată
- Monitorizarea reacțiilor adverse** - animalele experimentale au fost monitorizate zilnic și s-au înregistrat toate reacțiile neobișnuite sau nedorite ale animalelor - avându-se în vedere prezența rabiei.





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Diagnosticarea “post mortem” a rabiei - rabia a fost examinată în cortexul cerebral, cerebel, bulbul rahidian, și cornul lui Ammon prin metoda imunofluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973).

Determinarea anticorpilor antirabici - anticorpii antirabici au fost determinați din serurile animalelor testate în intervale de timp specificate. Anticorpii antirabici au fost determinați pe baza testului FAVN (Cliquet and Barrat, 1996)

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei care a efectuat testarea:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Născut: 26 noiembrie 1953

Educație: 1969 - 1973: Liceul Tehnic Agricol - profil veterinar, Kroměříž

1973 - 1979: Universitatea Veterinară, Brno

1. 4. 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, practică

1979 - 1980: serviciul militar în cadrul serviciului veterinar de frontieră

1980 - 1987: controlor tehnic independent în cadrul Departamentului de control și management al calității

1985 - 1990: studii de doctorat în domeniul științific epizootologie și igienă veterinară

1987 - 1995: șeful Departamentului de control și management al calității

1995 - 1998: director de producție în cadrul societății Bioveta, s.r.o.

1998 - 2003: directorul secției de producție și dezvoltare a medicamentelor și produselor biologice veterinare

2003-2007: directorul secției de inovare și dezvoltare a produselor biologice

de la 01.01. 2007: director adjunct, manager de proiect în cadrul societății Bioveta, a.s.

Calitatea de membru în organizații profesionale:

Societatea Cehoslovacă pentru Microbiologie - din 1980

Societatea Științifică Cehoslovacă de Micologie - din 1980

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

10





BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Societatea Cehoslovacă de Imunologie - din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Autor sau coautor al unui număr de 149 de publicații de specialitate.

Certificate de autor:

Autor sau coautor al unui număr de 25 de brevete.

Rapoarte finale:

Autor sau coautor al unui număr de 23 de rapoarte finale ale produselor introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.



Traducere din limba cehă



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Testarea vaccinului LYSVULPEN la cai

Cal nr.	Administrare orală LYSVULPEN	Clinică (180 zile)	Prelevare de sânge (IU/ml)				AUTOPSIE - IF			
			0 - iniț	1 lună	3 luni	6 luni	cortex cerebral	cerebel	bulb rahidian	cornul lui Ammon
1	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,89	0,81	neg.	neg.	neg.	neg.
2	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,21	1,19	1,15	neg.	neg.	neg.	neg.
3	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,90	0,83	neg.	neg.	neg.	neg.
4	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,55	1,39	1,25	neg.	neg.	neg.	neg.
5	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,30	1,25	neg.	neg.	neg.	neg.
6	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,88	0,75	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

12



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmăției, Str. Bogdan Vodă nr. 5, ap. 17, tel: (+04) 0262-31003; Brașov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com

Traducere din limba ceah



BIOVETA, a. s. Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 420/517/363321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

7	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,41	1,19	1,15	neg.	neg.	neg.	neg.
8	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	1,35	1,28	1,16	neg.	neg.	neg.	neg.
9	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,95	0,88	0,80	neg.	neg.	neg.	neg.
10	2,0 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	neg.	0	0,90	0,85	0,83	neg.	neg.	neg.	neg.
Medie		neg.	0	1,163	1,075	0,998	neg.	neg.	neg.	neg.

LYSVULPEN por. ad us. vet

Partea a III-a

13



Cluj-Napoca, Bulevardul Eroilor nr. 45, ap. 1, tel: (+04) 0264-439277
Sighetu Marmatiei, Str. Bogdan Vodă nr.5, ap.17, tel: (+04) 0262-31003; Braşov, Bdul. 15 Noiembrie nr. 76, tel. 0720.044.471
e-mail: office@translatorsrl.com ; www.translatorsrl.com



1. Siguranța administrării unei doze unice

A. Siguranța administrării unei doze unice – vulpea roșcată (Vulpes vulpes)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a dozei de vaccin recomandate pe 40 de vulpi roșcate (*Vulpes vulpes*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la vulpile testate. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul vulpilor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Vulpea roșcată (*Vulpes vulpes*) este o specie țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că vulpile sunt unul dintre tipurile de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la vulpi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la vulpi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la vulpi sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză recomandată este administrată pe cale orală vulpii roșcate (*Vulpes vulpes*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
(categoria – vulpea roșcată – Vulpes vulpes)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare sănătate	
1	L1	3 luni	♂	bună	
2	L2	3 luni	♂	bună	
3	L3	3 luni	♀	bună	
4	L4	3,5 luni	♀	bună	
5	L5	3,5 luni	♀	bună	
6	L6	3,5 luni	♂	bună	
7	L7	3,5 luni	♀	bună	coadă ruptă
8	L8	3,5 luni	♂	bună	
9	L9	3 luni	♀	bună	
10	L10	3,5 luni	♂	bună	
11	L11	3,5 luni	♂	bună	
12	L12	3,5 luni	♂	bună	
13	L13	3,5 luni	♀	bună	
14	L14	3,5 luni	♀	bună	
15	L15	4 luni	♂	bună	
16	L16	4 luni	♀	bună	
17	L17	4 luni	♂	bună	
18	L18	4 luni	♀	bună	
19	L19	4 luni	♀	bună	
20	L20	3 luni	♂	bună	
21	L21	3 luni	♂	bună	
22	L22	3 luni	♀	bună	canin rupt
23	L23	3 luni	♀	bună	
24	L24	3 luni	♂	bună	
25	L25	3 luni	♂	bună	
26	L26	4 luni	♂	bună	
27	L27	4 luni	♀	bună	
28	L28	4 luni	♀	bună	
29	L29	3 luni	♂	bună	conjunctivită la ochiul stâng
30	L30	3 luni	♀	bună	
31	L31	3 luni	♂	bună	
32	L32	3 luni	♀	bună	
33	L33	3 luni	♂	bună	
34	L34	3 luni	♂	bună	
35	L35	3 luni	♀	bună	
36	L36	4 luni	♀	bună	
37	L37	4 luni	♂	bună	
38	L38	4 luni	♂	bună	
39	L39	4 luni	♀	bună	
40	L40	4 luni	♂	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{6.1} / ml
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – vulpe

d2) Gen sau tulpină – vulpe roșcată (Vulpes vulpes)

d3) Categorie animal – pui tineri de vulpe, cu vârsta între 3 și 4 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 40

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – vulpile au fost ținute în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Vulpile de același gen au fost plasate într-un țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru vulpi și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru 5 vulpi.

d8) Hrănirea animalelor – vulpile au fost hrănite cu un amestec de hrană complex și granulată pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la

abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea vulpilor. Vulpile au fost hrănite o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru vulpi.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – 1 doză de aplicare (1 momeală).

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate.

Monitorizarea reacțiilor generale – vulpile testate au fost monitorizate pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, vulpile au fost eutanasiate într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele vulpilor eutanasiate prin utilizarea metodei fluorescente directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zoigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membri în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 1. Siguranța administrării unei doze unice – vulpe roșcată (Vulpes vulpes)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică	
1	L1	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	L2	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	L3	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	L4	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	L5	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	L6	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	L7	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	L8	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	L9	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	L10	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
11	L11	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
12	L12	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
13	L13	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
14	L14	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
15	L15	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
16	L16	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
17	L17	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
18	L18	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
19	L19	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
20	L20	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
21	L21	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
22	L22	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
23	L23	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
24	L24	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
25	L25	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
26	L26	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
27	L27	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	

TRADUCERE DIN LIMBA ENGLEZĂ

28	L28	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
29	L29	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
30	L30	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
31	L31	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
32	L32	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
33	L33	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
34	L34	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
35	L35	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
36	L36	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
37	L37	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
38	L38	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
39	L39	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
40	L40	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



B. Siguranța administrării unei doze unice – câinele enot (*Nycterentes procyonoides*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a dozei de vaccin recomandate pe 10 câini enot (*Nycterentes procyonoides*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la câinii enot testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul animalelor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Câinele enot (*Nycterentes procyonoides*) este al doilea animal țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. În termeni de dezvoltare, câinele enot este unul dintre cele mai vechi animale canine. Mai demult, trăia în estul îndepărtat. În scopul de a obține și mai multă blană, câinele enot a fost naturalizat în diverse zone ale fostei Uniuni sovietice încă din 1930. S-a răspândit ușor către vest, iar în prezent se găsește pe o suprafață ce se întinde până la Franța. Prezența sa a fost raportată în Republica Cehă încă din anii șaptezeci. Câinele enot este un omnivor tipic. S-a demonstrat că specia de câine enot este un animal sensibil la rabie. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la câinii enot. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câinii enot sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză recomandată este administrată pe cale orală câinelui enot (*Nycterentes procyonoides*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 (categoria – câinele enot – Nycterentes procyonoides)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare de sănătate	
1	M1	4 luni	♂	bună	
2	M2	4 luni	♀	bună	
3	M3	4 luni	♂	bună	
4	M4	4 luni	♂	bună	
5	M5	4 luni	♂	bună	
6	M6	5 luni	♀	bună	
7	M7	5 luni	♀	bună	
8	M8	5 luni	♂	bună	
9	M9	5 luni	♂	bună	
10	M10	5 luni	♀	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{6.1} / ml
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – câine enot

d2) Gen sau tulpină – câine enot (Nycterentes procyonoides)

d3) Categorie animal – animale tinere, cu vârsta între 4 și 5 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 10

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – câinii enot au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Câinii enot de același gen au fost plasați întotdeauna într-un țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru animale și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru 5 câini enot.

d8) Hrănirea animalelor – câinii enot au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulată pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la

abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea animalelor. Câinii enot au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru animale.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – 1 doză de aplicare (1 momeală).

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii enot testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, câinii enot au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele câinilor enot eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescențe directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zoigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membri în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 2. Siguranța administrării unei doze unice – câinele enot (*Nyctereutes procyonoides*)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică		
1	M1	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	M2	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	M3	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	M4	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	M5	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	M6	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	M7	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	M8	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	M9	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	M10	34 06	4.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



BIOVETA, a.s., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Republica Cehă
Tel.: 00420 517 318 500, e-mail: comm@bioveta.ez

C. Siguranța administrării unei doze unice – lup (Canis lupus)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a dozei de vaccin recomandate pe 40 de lupi (*Canis lupus*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la lupii testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul lupilor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Lupul (*Canis lupus*) ar putea fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că lupii reprezintă unul dintre acele tipuri de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la lupi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la lupi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la lupi sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză recomandată este administrată pe cale orală lupului (*Canis lupus*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 (categoria – lup – Canis lupus)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare sănătate	
1	W1	4 luni	♀	bună	
2	W2	4 luni	♂	bună	
3	W3	4 luni	♂	bună	
4	W4	3 luni	♀	bună	
5	W5	3 luni	♂	bună	
6	W6	3,5 luni	♀	bună	
7	W7	3,5 luni	♂	bună	foarte agresiv
8	W8	3,5 luni	♂	bună	
9	W9	3,5 luni	♂	bună	
10	W10	3,5 luni	♀	bună	
11	W11	3,5 luni	♂	bună	
12	W12	3,5 luni	♀	bună	foarte agresiv
13	W13	3,5 luni	♀	bună	
14	W14	3 luni	♂	bună	
15	W15	3 luni	♂	bună	
16	W16	3 luni	♀	bună	
17	W17	3 luni	♂	bună	
18	W18	3 luni	♀	bună	
19	W19	3 luni	♂	bună	foarte agresiv
20	W20	3 luni	♂	bună	foarte agresiv
21	W21	3,5 luni	♂	bună	
22	W22	3,5 luni	♀	bună	
23	W23	3,5 luni	♀	bună	
24	W24	3,5 luni	♀	bună	
25	W25	3,5 luni	♂	bună	
26	W26	4 luni	♂	bună	
27	W27	4 luni	♀	bună	
28	W28	4 luni	♂	bună	
29	W29	4 luni	♀	bună	
30	W30	4 luni	♂	bună	
31	W31	3,5 luni	♀	bună	
32	W32	3,5 luni	♂	bună	foarte agresiv
33	W33	3,5 luni	♀	bună	foarte agresiv
34	W34	3,5 luni	♀	bună	
35	W35	4 luni	♀	bună	
36	W36	4 luni	♂	bună	
37	W37	3 luni	♀	bună	
38	W38	3 luni	♀	bună	
39	W39	3 luni	♂	bună	
40	W40	3 luni	♀	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{7.1} / ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat la doza TCID 50 = 1 x 10 x 8,0 / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – lup

d2) Gen sau tulpină – lup (Canis lupus)

d3) Categorie animal – lupi tineri, cu vârsta între 3 și 4 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe (zoo etc.)

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 40

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – lupii au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru lupi și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru cinci lupi.

d8) Hrănirea animalelor – lupii au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulată pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la

abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea lupilor. Lupii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru lupi.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – 1 doză de aplicare (1 momeală).

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate.

Monitorizarea reacțiilor generale – lupii testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, lupii au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele lupilor eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescențe directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zoigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membri în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 3. Siguranța administrării unei doze unice – lup (Canis lupus)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică		
1	W1	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	W2	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	W3	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	W4	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	W5	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	W6	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	W7	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	W8	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	W9	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	W10	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
11	W11	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
12	W12	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
13	W13	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
14	W14	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
15	W15	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
16	W16	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
17	W17	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
18	W18	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
19	W19	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
20	W20	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
21	W21	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
22	W22	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
23	W23	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
24	W24	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
25	W25	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
26	W26	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
27	W27	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	

TRADUCERE DIN LIMBA ENGLEZĂ

28	W28	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
29	W29	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
30	W30	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
31	W31	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
32	W32	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
33	W33	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
34	W34	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
35	W35	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
36	W36	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
37	W37	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
38	W38	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
39	W39	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
40	W40	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



D. Siguranța administrării unei doze unice – câini maidanezi (Canis lupus familiaris)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a dozei de vaccin recomandate pe 40 de câini maidanezi (*Canis lupus familiaris*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la câinii maidanezi testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul câinilor maidanezi a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Câinele maidanez (*Canis lupus familiaris*) ar putea fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că acești câini reprezintă unul dintre acele tipuri de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la câinii maidanezi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la câinii maidanezi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câinii maidanezi sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză recomandată este administrată pe cale orală câinelui maidanez (*Canis lupus familiaris*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 (categoria – câini maidanezi – Canis lupus familiaris)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare sănătate	
1	D1	3 luni	♂	bună	
2	D2	3 luni	♂	bună	
3	D3	3 luni	♂	bună	
4	D4	3 luni	♀	bună	
5	D5	3 luni	♀	bună	
6	D6	3,5 luni	♂	bună	
7	D7	4 luni	♂	bună	
8	D8	4 luni	♀	bună	
9	D9	4 luni	♂	bună	
10	D10	4 luni	♀	bună	
11	D11	3 luni	♂	bună	
12	D12	3 luni	♀	bună	
13	D13	3 luni	♂	bună	
14	D14	3,5 luni	♂	bună	
15	D15	3,5 luni	♂	bună	
16	D16	3,5 luni	♂	bună	
17	D17	3,5 luni	♀	bună	
18	D18	3,5 luni	♀	bună	
19	D19	3,5 luni	♀	bună	
20	D20	3,5 luni	♀	bună	
21	D21	4 luni	♂	bună	
22	D22	4 luni	♂	bună	
23	D23	4 luni	♀	bună	
24	D24	4 luni	♂	bună	
25	D25	4 luni	♀	bună	
26	D26	3,5 luni	♂	bună	
27	D27	3,5 luni	♀	bună	
28	D28	3,5 luni	♂	bună	
29	D29	3,5 luni	♀	bună	
30	D30	3,5 luni	♀	bună	
31	D31	3 luni	♂	bună	
32	D32	3 luni	♂	bună	
33	D33	3 luni	♀	bună	
34	D34	3 luni	♀	bună	
35	D35	3 luni	♀	bună	
36	D36	4 luni	♂	bună	
37	D37	4 luni	♀	bună	
38	D38	3,5 luni	♀	bună	
39	D39	3,5 luni	♂	bună	
40	D40	3,5 luni	♂	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{7.1} / ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat la doza TCID 50 = 1 x 10 x 8,0 / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – câine

d2) Gen sau tulpină – câine maidanez (Canis lupus familiaris)

d3) Categorie animal – câini maidanezi tineri, cu vârsta între 3 și 4 luni

d4) Origine – animalele provin din crescătoria Bioveta, a.s.

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 40

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – câinii maidanezi au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru câini și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru cinci câini maidanezi.

d8) Hrănirea animalelor – câinii maidanezi au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat

pentru utilizare în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea animalelor. Câinii maidanezi au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru câinii maidanezi.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – 1 doză de aplicare (1 momeală).

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii maidanezi testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, aceștia au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele câinilor eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescente directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zooigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980
Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 4. Siguranța administrării unei doze unice – câine maidanez (Canis lupus familiaris)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică	
1	D1	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	D2	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	D3	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	D4	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	D5	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	D6	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	D7	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	D8	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	D9	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	D10	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
11	D11	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
12	D12	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
13	D13	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
14	D14	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
15	D15	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
16	D16	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
17	D17	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
18	D18	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
19	D19	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
20	D20	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
21	D21	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
22	D22	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
23	D23	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
24	D24	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
25	D25	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
26	D26	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
27	D27	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	

TRADUCERE DIN LIMBA ENGLEZĂ

28	D28	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
29	D29	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
30	D30	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
31	D31	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
32	D32	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
33	D33	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
34	D34	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
35	D35	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
36	D36	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
37	D37	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
38	D38	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
39	D39	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
40	D40	34 06	14.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



E. Siguranța administrării unei doze unice – șacal auriu (*Canis aureus*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a dozei de vaccin recomandate pe 40 de șacali aurii (*Canis aureus*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la șacalii testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul șacalilor aurii a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Șacalul auriu (*Canis aureus*) ar putea fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că șacalii reprezintă unul dintre acele tipuri de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la șacali decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la șacali. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la șacali sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză recomandată este administrată pe cale orală șacalului auriu (*Canis aureus*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
(categoria – șacali aurii – Canis aureus)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare sănătate	
1	G1	3 luni	♂	bună	
2	G2	3 luni	♀	bună	foarte agresiv
3	G3	3 luni	♂	bună	
4	G4	4 luni	♂	bună	
5	G5	4 luni	♀	bună	
6	G6	4 luni	♂	bună	
7	G7	3 luni	♂	bună	
8	G8	3 luni	♀	bună	
9	G9	3 luni	♂	bună	
10	G10	3 luni	♀	bună	
11	G11	4 luni	♀	bună	
12	G12	4 luni	♂	bună	
13	G13	4 luni	♂	bună	
14	G14	3,5 luni	♂	bună	
15	G15	3,5 luni	♀	bună	
16	G16	3,5 luni	♀	bună	
17	G17	3,5 luni	♀	bună	
18	G18	5 luni	♂	bună	
19	G19	5 luni	♂	bună	
20	G20	5 luni	♀	bună	
21	G21	5 luni	♂	bună	
22	G22	4 luni	♂	bună	
23	G23	4 luni	♀	bună	
24	G24	4 luni	♂	bună	foarte timid
25	G25	4 luni	♂	bună	
26	G26	3 luni	♀	bună	
27	G27	3 luni	♀	bună	
28	G28	3 luni	♂	bună	
29	G29	3 luni	♀	bună	
30	G30	6 luni	♂	bună	
31	G31	6 luni	♀	bună	
32	G32	6 luni	♂	bună	
33	G33	6 luni	♂	bună	
34	G34	6 luni	♀	bună	
35	G35	6 luni	♀	bună	
36	G36	6 luni	♀	bună	
37	G37	3 luni	♂	bună	foarte timid
38	G38	3 luni	♂	bună	foarte timid
39	G39	3,5 luni	♂	bună	foarte timid
40	G40	3,5 luni	♂	bună	foarte timid



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{7.1} / ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat la doza TCID 50 = 1 x 10 x 8,0 / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – șacal

d2) Gen sau tulpină – șacal auriu (Canis aureus)

d3) Categorie animal – șacali aurii tineri, cu vârsta între 3 și 6 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe (zoo etc.)

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 40

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – șacalii au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru șacali și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru cinci șacali.

d8) Hrănirea animalelor – șacalii au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la

abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea șacalilor. Șacalii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru șacali.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – 1 doză de aplicare (1 momeală).

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate.

Monitorizarea reacțiilor generale – șacalii testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, aceștia au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele șacalilor eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescente directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zoigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 5. Siguranța administrării unei doze unice – șacal auriu (Canis aureus)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică	
1	G1	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	G2	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	G3	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	G4	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	G5	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	G6	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	G7	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	G8	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	G9	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	G10	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
11	G11	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
12	G12	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
13	G13	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
14	G14	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
15	G15	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
16	G16	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
17	G17	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
18	G18	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
19	G19	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
20	G20	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
21	G21	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
22	G22	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
23	G23	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
24	G24	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
25	G25	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
26	G26	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
27	G27	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	

TRADUCERE DIN LIMBA ENGLEZĂ

28	G28	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
29	G29	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
30	G30	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
31	G31	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
32	G32	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
33	G33	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
34	G34	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
35	G35	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
36	G36	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
37	G37	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
38	G38	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
39	G39	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
40	G40	34 06	19.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



2. Siguranța administrării unei supradoze

A. Siguranța administrării unei supradoze – vulpea roșcată (*Vulpes vulpes*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a unei doze mai mari pe 10 vulpi roșcate (*Vulpes vulpes*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la vulpile testate. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul vulpilor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Vulpea roșcată (*Vulpes vulpes*) este specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că vulpile sunt unul dintre tipurile de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la vulpi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la vulpi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la vulpi sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză înzecită față de doza recomandată este administrată pe cale orală vulpii roșcate (*Vulpes vulpes*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



BIOVETA, a.s., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Republica Cehă
 Tel.: 00420 517 318 500, e-mail: comm@bioveta.cz

**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 – administrarea unică a unei supradoze
 (categoria – vulpea roșcată – Vulpes vulpes)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare sănătate	
1	L41	3 luni	♀	bună	
2	L42	3 luni	♂	bună	
3	L43	3 luni	♀	bună	
4	L44	3 luni	♀	bună	
5	L45	4 luni	♀	bună	
6	L46	4 luni	♂	bună	
7	L47	4 luni	♂	bună	
8	L48	4 luni	♀	bună	
9	L49	4 luni	♀	bună	
10	L50	4 luni	♂	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{6.1} / ml (în scopul verificării dacă virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0} / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – vulpe

d2) Gen sau tulpină – vulpe roșcată (Vulpes vulpes)

d3) Categorie animal – pui tineri de vulpe, cu vârsta între 3 și 4 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 10

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – vulpile au fost ținute în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Vulpile de același gen au fost plasate într-un țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru vulpi și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru 5 vulpi.

d8) Hrănirea animalelor – vulpile au fost hrănite cu un amestec de hrană complex și granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare

în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea vulpilor. Vulpile au fost hrănite o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru vulpi.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – o cantitate de 10 doze de aplicare.

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate înzecite.

Monitorizarea reacțiilor generale – vulpile testate au fost monitorizate pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, vulpile au fost eutanasiate într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele vulpilor eutanasiate prin utilizarea metodei fluorescente directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zooigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membri în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980
Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 3. Siguranța administrării unei supradoze – vulpe roșcată (Vulpes vulpes)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică		
1	L41	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	L42	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	L43	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	L44	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	L45	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	L46	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	L47	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	L48	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	L49	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	L50	34 06	21.7.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



B. Siguranța administrării unei supradoze – câinele enot (*Nycterentes procyonoides*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a unei doze înzecite din doza de vaccinare recomandată pe 10 câini enot (*Nycterentes procyonoides*). În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la câinii enot testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul animalelor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Câinele enot (*Nycterentes procyonoides*) este al doilea animal țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. În termenii de dezvoltare, câinele enot este unul dintre cele mai vechi animale canine. Mai demult, trăia în estul îndepărtat. În scopul de a obține și mai multă blană, câinele enot a fost naturalizat în diverse zone ale fostei Uniuni sovietice încă din 1930. S-a răspândit ușor către vest, iar în prezent se găsește pe o suprafață ce se întinde până la Franța. Prezența sa a fost raportată în Republica Cehă încă din anii șaptezeci. Câinele enot este un omnivor tipic. S-a demonstrat că specia de câine enot este un animal sensibil la rabie. Perioada de monitorizare de 180 de zile este suficient de lungă pentru ca simptomele rabice clinice să apară la câinii enot. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câinii enot sunt demonstrative și suficient de sensibile pentru a detecta rabia la animale după terminarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză înzecită față de doza recomandată este administrată pe cale orală câinelui enot (*Nycterentes procyonoides*). Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 – administrarea unică a unei supradoze
 (categoria – câinele enot – Nycterentes procyonoides)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare de sănătate	
1	M11	4 luni	♂	bună	
2	M12	4 luni	♂	bună	
3	M13	4 luni	♀	bună	
4	M14	4 luni	♂	bună	
5	M15	5 luni	♀	bună	
6	M16	5 luni	♀	bună	
7	M17	5 luni	♀	bună	o rană mică la extremitate
8	M18	5 luni	♂	bună	
9	M19	5 luni	♀	bună	
10	M20	5 luni	♂	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{6.1} / ml (în scopul verificării dacă virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0} / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – câine enot

d2) Gen sau tulpină – câine enot (Nycterentes procyonoides)

d3) Categorie animal – animale tinere, cu vârsta între 4 și 5 luni

d4) Origine – animalele provin de pe teritoriul Republicii Cehe

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 10

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – câinii enot au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Câinii enot de același gen au fost plasați întotdeauna într-un țarc. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru animale și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru cinci câini enot.

d8) Hrănirea animalelor – câinii enot au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare

în Republica Cehă, precum și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate de la abatoare sanitare. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea animalelor. Câinii enot au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru animale.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – o cantitate de 10 doze de aplicare.

Modalitatea de aplicare – administrare orală (consum natural), blistere de aluminiu/plastic rupte au fost verificate ca dovadă a consumului.

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate înzecite.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii enot testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, câinii enot au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele câinilor enot eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescențe directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zooigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membri în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 4. Siguranța administrării unei supradoze – câinele enot (Nyctereutes procyonoides)

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică		
1	M11	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	M12	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	M13	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	M14	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	M15	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	M16	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	M17	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	M18	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	M19	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	M20	34 06	18.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	



C. Siguranța administrării unei supradoze – câine

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării unice pe cale orală (*per os*) a unei doze înzecite din doza de vaccinare recomandată pe 10 câini. În termen de 180 de zile de la administrare, nu a apărut nici un simptom de rabie la câinii testați. După terminarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost eutanasiate, iar prezența virusului rabic în creierul animalelor a fost verificată prin intermediul metodelor de laborator. Rabia nu a fost diagnosticată post mortem la nici un subiect.

Expunere:

Vulpea (*Vulpes vulpes*) este una dintre speciile țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. S-a demonstrat că vulpile sunt unul dintre tipurile de animale cele mai sensibile la rabie. Doza infecțioasă de virus rabic este de două ori mai scăzută la vulpi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări.

Pe durata aplicării propuse a vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet., prin distribuire regională conform condițiilor de teren (prin aplicare manuală și cu avionul), se poate întâmpla (au fost raportate cazuri) ca un animal altul decât animalul țintă (adică vulpea sau câinele enot) să consume momeala cu vaccinul ce conține virusul rabic tulpina SAD-Bern.

Câinii sunt animalele domestice care intră cel mai des în contact cu momeala. În special pe durata depunerii de toamnă, adică în luna octombrie, câinii de vânatoare consumă momelile (ciobănesc german, cocker spaniel, teckel, setter irlandez, terrier ceh etc.). Contactul cu momeala depusă nu trebuie exclusă la câinii utilizați pentru braconaj, câinii plimbați fără lesă sau pe durata dresajului. Este de extremă importanță excluderea posibilității de dezvoltare a rabiei (infectarea câinelui prin intermediul momelii) întrucât există de obicei contact fizic direct între câinele care a consumat momeala și stăpân.

Aplicarea dozei înzecite din doza de vaccinare recomandată și monitorizarea pe o perioadă de 180 de zile și examinarea post mortem sunt metode demonstrative corespunzătoare și sensibile pentru a exclude dezvoltarea rabiei la câini după consumarea momelii „LYSVULPEN por. ad us. vet.”. Condiții experimentale extreme au confirmat în întregime patogenitatea virusului SAD-Bern la câini.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv dacă o doză înzecită față de doza recomandată este administrată pe cale orală câinilor. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice după administrarea vaccinului și pe baza analizei de laborator „post mortem” după terminarea testării.

LYSVULPEN por. ad us. vet.



**Lista și caracteristicile animalelor incluse în testarea inofensivității
 – administrarea unică a unei supradoze
 (categoria – câine)**

Nr. animal	ID animal	Caracteristici animal			Comentarii
		vârstă	gen	Stare de sănătate	
1	P1	3 luni	♀	bună	
2	P2	3 luni	♂	bună	
3	P3	3 luni	♀	bună	
4	P4	3,5 luni	♀	bună	
5	P5	3,5 luni	♀	bună	
6	P6	4 luni	♂	bună	a suferit o boală diareică
7	P7	4 luni	♀	bună	
8	P8	5 luni	♂	bună	
9	P9	5 luni	♂	bună	
10	P10	6 luni	♂	bună	



Protocol testare

a) Descrierea metodei aplicate:

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (cu o atenție sporită la înregistrarea simptomelor clinice asociate rabiei)

a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei

- imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
- teste biologice pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – de către compania Hereus
- frigider Calex 250 1 (temperatura 2 până la 8°C)
- seringă cu prelungitor din cauciuc destinat aplicării vaccinului în cavitatea orală

c) Descrierea materialelor utilizate:

- carnet pentru luarea de notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 34 06 – titlu virus TCID₅₀ = 10^{6.1} / ml (în scopul verificării dacă virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0} / ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ de către producătorul Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale utilizate pentru testare:

d1) Specia – câine

d2) Gen sau tulpină – Beagle, animale comerciale (nu animale fără patogeni sau fără anticorpi)

d3) Categorie animal – căței cu vârsta între 3 și 6 luni, care nu au fost vaccinați împotriva vreunei boli canine, vermifugați

d4) Origine – Biotest Konárovice, sediul din Rosice u Pardubic

d5) Identificare – un tatuaj pe auricul

d6) Numărul animalelor – 10

d7) Condițiile în care animalele au fost ținute – câinii au fost ținuți în țarcuri, cu 5 animale în fiecare țarc. Câinii de același gen au fost plasați întotdeauna într-un țarc, adică fie masculi sau femele. Țarcul a fost împărțit într-o parte internă construită cu o porțiune de odihnă pentru câini și într-o parte în aer liber. Partea internă a fost betonată, iar în zona în aer liber a fost amplasat nisip. Suprafața totală (adică podeaua țarcului intern plus zona adiacentă) a fost de 10 metri pătrați pentru cinci câini.

d8) Hrănirea animalelor – câinii au fost hrăniți cu un amestec de hrană complex și granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial și înregistrat pentru utilizare în Republica Cehă. Dozele de mâncare ale amestecului de hrană comercială au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea câinilor. Câinii au fost hrăniți de două ori pe zi, la ora 08.00 și la ora 14.00. Apa de băut a fost tot timpul disponibilă pentru câini.

d9) Denumirea proprietarului animalelor – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) Denumirea institutului de testare – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de aplicare, modalitatea de aplicare, schema de aplicare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale:

Doza de aplicare – o cantitate de 10 doze de aplicare.

Modalitatea de aplicare – administrare orală (aplicarea prin intermediul unei seringi cu un prelungitor din cauciuc destinat aplicării vaccinului în cavitatea orală într-o doză de 1,8 ml din vaccin).

Schema de aplicare – o vaccinare unică a dozei de aplicare recomandate înzecite.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii testați au fost monitorizați pentru o perioadă de 180 de zile. După terminarea acestei perioade, câinii au fost eutanasiați într-un mod nedureros.

Diagnosticarea „post mortem” în laborator a rabiei – rabia a fost diagnosticată în creierele câinilor enot eutanasiați prin utilizarea metodei fluorescente directe (Dean and Abelseth, 1973) și a testelor biologice pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei examinatoare:

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

1969-1973: Liceul de Agricultură și Inginerie – specializarea: medicină veterinară, din Kroměříž

1973-1979: Universitatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: începerea perioadei de practică la Bioveta Ivanovice na Hané

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul Veterinar din cadrul Gardei de Frontieră

1980-1987: Controler independent de inginerie al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1985-1990: teză de studiu asupra disciplinei științifice epizootologie și zooigienă

1987-1995: Director al Departamentului pentru Controlul Calității și Management

1 februarie 1995-prezent: Director de producție la Bioveta, s.r.o.

1 ianuarie 1998-prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare pentru biopreparate și produse farmaceutice veterinare

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de micologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autor sau coautor a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autor sau coautor a 15 brevete și 5 design-uri utilitare.

Rapoarte adversar final:

Este autor sau coautor a 19 rapoarte finale pentru pregătiri introduse în practică.

Specializare profesională: imunologie, virologie

MVDr. Vladimir Vrzal, CSc.



Tabelul 5. Siguranța administrării unei supradoze – câine

Nr. animal	ID animal	Nr. lot vaccin	Data aplicării	Evaluare clinică						Examinare laborator		Note	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	testare biologică		
1	P1	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
2	P2	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
3	P3	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
4	P4	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
5	P5	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
6	P6	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
7	P7	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
8	P8	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
9	P9	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	
10	P10	34 06	11.8.99	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	conformă	negativ	negativ	

D. Siguranța administrării unei supradoze – la pisică

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării pe cale orală a unei singure doze de zece ori mai mare decât doza recomandată de vaccin la 10 pisici. Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrare, nu au apărut simptome de rabie la pisicile supuse testelor. După încheierea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul pisicilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei la niciunul din cazuri.

Expunere:

Vulpea roșie (*Vulpes vulpes*) este una dintre speciile țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că vulpile fac parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la vulpi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări.

Pe durata administrării propuse a vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. – adică cu răspândire în condiții de libertate – (atât prin administrare manuală cât și pe care aeriană), se poate întâmpla ca (s-au raportat cazuri) un animal, altul decât animalul țintă (adică vulpea roșie sau câinele-enot), să consume momeala care conține virusul rabic, tulpina SAD-Bern pentru vaccinare.

În afară de câini, din categoria animalelor care găsesc și consumă des momeala amplasată, fac parte și pisicile domestice. Acest lucru se datorează faptului că substanța din momeală, care conține la rândul ei făină de pește, atrage pisicile (dar și vulpile). Mai mult, acest lucru este cauzat și de stilul de viață al pisicilor, pentru că multe pisici, și în special cele care trăiesc în zonele rurale, se îndepărtează destul de mult de casă, căutând diversitate în materie de hrană. Contactul pisicilor cu momeala nu poate fi evitat total, nici în cazul în care campania de vaccinare este anunțată de presa locală. Este foarte important ca apariția rabiei la pisici (infecțarea pisicilor prin momeală) să fie evitată, pentru că pisicile se întorc acasă și, de obicei, intră în contact cu oamenii.

Administrarea unei cantități de zece ori mai mare decât doza de vaccinare recomandată la 10 pisici, monitorizarea pe o perioadă de timp de 180 de zile, precum și examinarea post mortem reprezintă metode demonstrative și precise de excludere a apariției rabiei la pisici după consumul momelei care conține vaccinul „LYSVULPEN por. ad us. vet.”. Condițiile experimentale extreme au confirmat integral apatogenitatea virusului SAD-Bern pentru pisici.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru pisici și dacă se administrează oral o doză de zece ori mai mare decât doza recomandată. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – pisică)

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	K1	3 luni	♂	bună	
2	K2	3 luni	♀	bună	
3	K3	3 luni	♂	bună	o pisică oarbă de ochiul drept
4	K4	3,5 luni	♂	bună	
5	K5	3,5 luni	♂	bună	
6	K6	3,5 luni	♂	bună	
7	K7	4 luni	♀	bună	
8	K8	4 luni	♀	bună	
9	K9	5 luni	♀	bună	
10	K10	6 luni	♀	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)
- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 I (temperatură 2 - 8°C)
- seringă prevăzută cu prelungitor de cauciuc, concepută pentru introducerea vaccinului în cavitatea bucală

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{6.1}/ ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0}/ ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – pisică
- d2) **Gen sau rasă** – Pisică domestică europeană cu blana scurtă, animale crescute în scop comercial (dar nu și animale lipsite de agenți patogeni specifici sau anticorpi specifici)
- d3) **Categorie animal** – pui de pisică cu o vârstă cuprinsă între 3 – 6 luni, nevaccinați împotriva niciunei boli infecțioase care afectează felinele, deparazitați intern.
- d4) **Origine** – Biotest Konárovice (pisicile au fost achiziționate de la furnizori de rase acreditate)
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – pisicile au fost ținute câte 5 în boxe. Pisicile de același sex au fost întotdeauna ținute în aceeași boxă. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, compusă din porțiuni mai ridicate care serveau ca spații de repaus pentru pisici, și zona exterioară. Zona interioară era cimentată și pavată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona exterioară a fost de asemenea prevăzută cu construcții de lemn neprelucrat pentru ca animalele să-și poată ascuții dinții și să se poată cățara. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 4 metri pătrați pentru cinci pisici. Animalele au fost supuse testării după ce au fost deparazitate intern, în prealabil, cu un preparat acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, administrat în doza recomandată și după expirarea perioadei de carantină, pe durata căreia animalele nu au prezentat deviații de la starea standard de sănătate.
- d8) **Hrănirea animalelor** – pisicile au fost hrănite cu un amestec furajer granulat, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea pisicilor. Pisicile au fost hrănite de două ori pe zi, la ora 08:00 și respectiv ora 14:00. Pisicile au putut bea apă după poftă. Atât hrana cât și apa au fost servite în boluri inoxidabile.

d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) **Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale**

Doză de administrare – o cantitate de 10 doze de administrare

Cale de administrare – orală (se administrează cu ajutorul unei seringi prevăzute cu prelungitor de cauciuc, conceput pentru introducerea vaccinului în cavitatea bucală în doze de 1,8 ml)

Plan de administrare – o singură vaccinare a unei doze de zece ori mai mare decât doza recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – pisicile supuse testelor au fost monitorizate pe durata unei perioade de 180 de zile. După această perioadă, pisicile au fost sacrificate fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a prezenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul pisicilor sacrificate s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zooigenă.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 6 Siguranța administrării unei supradoze – la pisică

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Serie vaccin	Data administrării	Evaluare clinică						Examinare în laborator		Obs.	
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic		
1	K1	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	K2	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
3	K3	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
4	K4	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
5	K5	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
6	K6	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
7	K7	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
8	K8	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
9	K9	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
10	K10	34 06	11.8.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	



E. Siguranța administrării unei supradoze – la lup (Canis lupus)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării pe cale orală a unei singure doze de zece ori mai mare decât doza recomandată de vaccin la 10 lupi (Canis lupus). Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrare, nu au apărut simptome de rabie la lupii supuși testelor. După încheierea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul lupilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența la niciunul din cazuri.

Expunere:

Lupul (Canis lupus) poate fi una din speciile țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că lupii fac parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la lupi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la lupi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la lupi reprezintă metode demonstrative și precise de detectare a rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru lupi (Canis lupus) și dacă se administrează oral o doză de zece ori mai mare decât doza recomandată. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – lup (Canis lupus))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	W41	3,5 luni	♂	bună	
2	W42	3,5 luni	♂	bună	foarte agresiv
3	W43	3,5 luni	♂	bună	
4	W44	4 luni	♀	bună	
5	W45	4 luni	♀	bună	
6	W46	3 luni	♀	bună	
7	W47	3 luni	♀	bună	
8	W48	3 luni	♂	bună	foarte agresiv
9	W49	3 luni	♀	bună	foarte agresiv
10	W50	3,5 luni	♂	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 I (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.1}/ ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0}/ ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – lup
- d2) **Gen sau rasă** – lup (Canis lupus)
- d3) **Categorie animal** – lupi tineri cu o vârstă cuprinsă între 3,5 – 4 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe (grădini zoologice, etc.)
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – lupii au fost ținuți câte 5 în boxe. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu spații de repaus pentru lupi, și zona exterioară. Zona interioară era cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci lupi.
- d8) **Hrănirea animalelor** – lupii au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea lupilor. Lupii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Lupii au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – o cantitate de 10 doze de administrare

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – o singură vaccinare cu o doză de zece ori mai mare decât doza de administrare recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – lupii supuși testelor au fost monitorizați zilnic pe durata unei perioade de 180 de zile. După această perioadă, lupii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a prezenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul lupilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zooigenă.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.



Tabel nr. 8 Siguranța administrării unei supradoze – la lup (Canis lupus)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Nr. serie vaccin	Data administrării	Evaluare clinică						Examinare în laborator		Obs.
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic	
1	W41	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	W42	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
3	W43	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
4	W44	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
5	W45	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
6	W46	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
7	W47	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
8	W48	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
9	W49	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
10	W50	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	



F. Siguranța administrării unei supradoze – la câinii fără stăpân (Canis lupus familiaris)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării pe cale orală a unei singure doze de zece ori mai mare decât doza recomandată de vaccin la 10 câini (*Canis lupus familiaris*). Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrare, nu au apărut simptome de rabie la câinii supuși testelor. După finalizarea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul câinilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei la niciunul din cazuri.

Expunere:

Câinele (*Canis lupus familiaris*) poate fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că din categoria animalelor predispuse la rabie face parte și câinele. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la câini decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la câini. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câini reprezintă metode demonstrative și precise de detectare a rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru câini (*Canis lupus familiaris*) și dacă se administrează oral o doză de zece ori mai mare decât doza recomandată. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – câine (Canis lupus familiaris))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	D41	3,5 luni	♀	bună	
2	D42	3,5 luni	♀	bună	
3	D43	3,5 luni	♀	bună	
4	D44	4 luni	♀	bună	
5	D45	4 luni	♂	bună	
6	D46	3 luni	♂	bună	
7	D47	3 luni	♂	bună	
8	D48	3 luni	♀	bună	
9	D49	3 luni	♀	bună	
10	D50	3,5 luni	♀	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 I (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.1}/ ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9.0}/ ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – câine
- d2) **Gen sau rasă** – câine (Canis lupus familiaris)
- d3) **Categorie animal** – câini tineri cu o vârstă cuprinsă între de 3 – 4 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de la crescătoria proprie Bioveta, a.s.
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – câinii au fost păstrați câte 5 în boxe. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu spații de repaus pentru câini, și zona exterioară. Zona interioară era cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci câini.
- d8) **Hrănirea animalelor** – câinii au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea câinilor. Câinii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Câinii au putut bea apă după voie.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – o cantitate de 10 doze de administrare

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – o singură vaccinare a unei doze de zece ori mai mare decât doza recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii supuși testelor au fost monitorizați pe durata unei perioade de 180 de zile. După această perioadă, câinii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a prezenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul câinilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zooigienă.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.



Tabel nr. 9 Siguranța administrării unei supradoze – la câine (Canis lupus familiaris)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Nr. serie vaccin	Data administrării	Evaluare clinică						Examinare în laborator		Obs.
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic	
1	D41	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	D42	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
3	D43	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
4	D44	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
5	D45	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
6	D46	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
7	D47	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
8	D48	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
9	D49	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
10	D50	34 06	21.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	



G. Siguranța administrării unei supradoze – la șacalul auriu (Canis aureus)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării pe cale orală a unei singure doze de zece ori mai mare decât doza recomandată de vaccin la 10 șacali aurii (Canis aureus). Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrare, nu au apărut simptome de rabie la șacalii aurii supuși testelor. După încheierea perioadei de monitorizare, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul șacalilor aurii a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei la niciunul din cazuri.

Expunere:

Șacalul auriu (Canis aureus) poate fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că șacalii aurii fac parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la șacalii aurii decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la șacalii aurii. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la șacalii aurii reprezintă metode demonstrative și precise de detectare a rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru șacalii aurii (Canis aureus) și dacă se administrează oral o doză de zece ori mai mare decât doza recomandată. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – șacalii aurii (Canis aureus))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	GJ41	6 luni	♂	bună	
2	GJ42	6 luni	♀	bună	
3	GJ43	6 luni	♀	bună	foarte agresiv
4	GJ44	3 luni	♂	bună	
5	GJ45	3 luni	♂	bună	
6	GJ46	3 luni	♀	bună	
7	GJ47	3,5 luni	♂	bună	
8	GJ48	3,5 luni	♀	bună	
9	GJ49	4 luni	♂	bună	
10	GJ50	4 luni	♀	bună	foarte timid

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37°C și 5% CO₂ – produs de compania Hereus
- frigider Calex 250 l (temperatură 2-8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7,1}/ ml (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 10^{9,0}/ ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – șacal
- d2) **Gen sau rasă** – șacal auriu (Canis aureus)
- d3) **Categorie animal** – șacali tineri cu o vârstă cuprinsă între 3 – 6 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe (grădini zoologice, etc.)
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – șacalii au fost ținuți câte 5 în boxe. Boxa a fost împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu spații de repaus pentru șacali, și zona exterioară. Zona interioară a fost cimentată, iar zona exterioară este reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci șacali.
- d8) **Hrănirea animalelor** – șacalii au fost hrăniți cu amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea șacalilor. Șacalii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Șacalii au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale

Doză de administrare – o cantitate de 10 doze de administrare

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – o singură vaccinare a unei doze de zece ori mai mare decât doza recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – șacalii supuși testelor au fost monitorizați zilnic pe durata unei perioade de 180 de zile. După această perioadă, șacalii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul șacalilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, in Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonoză.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.



Tabel nr. 10 Siguranța administrării unei supradoze – la șacalul auriu (Canis aureus)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Serie vaccin	Data administrării	Evaluare clinică						Examinare în laborator		Obs.
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic	
1	GJ41	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	GJ42	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
3	GJ43	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
4	GJ44	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
5	GJ45	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
6	GJ46	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
7	GJ47	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
8	GJ48	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
9	GJ49	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
10	GJ50	34 06	28.7.99	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	

3. Siguranța administrării repetate a unei doze

A. Siguranța administrării repetate a unei doze – la vulpea roșie (*Vulpes vulpes*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării repetate pe cale orală a dozei recomandate de vaccin la 10 vulpi roșii (*Vulpes vulpes*). La 180 de zile de la administrarea primei doze nu au apărut simptome de rabie la vulpile supuse testelor. Apoi, s-a administrat cea de-a doua doză de vaccin. După finalizarea perioadei de monitorizare de 180 de zile, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul vulpilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei.

Expunere:

Vulpea roșie (*Vulpes vulpes*) este specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că vulpile fac parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la vulpi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării atât primei administrări, cât și a celor repetate, este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la vulpi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la vulpi reprezintă metode demonstrative și precise pentru detectarea rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru vulpile roșii (*Vulpes vulpes*) și dacă doza recomandată se administrează oral în mod repetat. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – vulpea roșie (Vulpes vulpes))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	L51	3 luni	♂	bună	
2	L52	3 luni	♂	bună	
3	L53	3 luni	♀	bună	
4	L54	3 luni	♂	bună	
5	L55	3 luni	♀	bună	o rană de dimensiuni mici pe șold
6	L56	4 luni	♀	bună	
7	L57	4 luni	♂	bună	
8	L58	4,5 luni	♂	bună	
9	L59	4,5 luni	♂	bună	
10	L60	4,5 luni	♀	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)
- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs de compania Hereus
- frigider Calex 250 l (temperatură 2 – 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{6.1}/ ml (pentru prima vaccinare)
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 45 07 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.2}/ ml (pentru a doua vaccinare)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – vulpe
- d2) **Gen sau rasă** – vulpea roșie (Vulpes vulpes)
- d3) **Categorie animal** – pui de vulpe roșie cu o vârstă cuprinsă între 3 – 4,5 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – vulpile au fost ținute câte 5 în boxe. Vulpile de același sex au fost întotdeauna ținute în aceeași boxă. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu spații de repaus pentru vulpi, și zona exterioară. Zona interioară era cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona totală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci vulpi.
- d8) **Hrănirea animalelor** – vulpile au fost hrănite cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea vulpilor. Vulpile au fost hrănite o dată pe zi, la ora 14:00. Vulpile au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – administrarea repetată a unei (1) doze de administrare (1 momeală)

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – vaccinare repetată a dozei de administrare recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – vulpile supuse testelor au fost monitorizate pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei și celei de-a doua doze. După perioada de monitorizare de după administrarea celei de-a doua doze, vulpile au fost sacrificate fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul vulpilor sacrificate s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonozii.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 7 Siguranța administrării repetate a unei doze – la vulpea roșie (Vulpes vulpes)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Prima admin.		Evaluare clinică după prima administrare a vaccinului					
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni
1	L51	26.8.1999	34 06	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
2	L52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
3	L53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
4	L54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
5	L55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
6	L56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
7	L57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
8	L58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
9	L59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
10	L60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde

Nr. ord.	Nr. ident. animal	A doua admin.		Evaluare clinică după a doua administrare a vaccinului						Examinare în laborator				
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic			
1	L51	8.3.2000	45 07	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	L52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
3	L53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
4	L54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
5	L55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
6	L56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
7	L57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
8	L58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
9	L59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
10	L60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ

B. Siguranța administrării repetate a unei doze – la câinele-enot (*Nyctereutes procyonoides*)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării repetate pe cale orală a dozei recomandate de vaccin la câini-enot (*Nyctereutes procyonoides*). La 180 de zile de la administrarea primei doze, nu au apărut simptome de rabie la câinii-enot supuși testelor. Apoi, s-a administrat cea de-a doua doză de vaccin. După finalizarea perioadei de monitorizare de 180 de zile, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul la câinilor-enot a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei la niciunul din cazuri.

Expunere:

Câinele-enot (*Nyctereutes procyonoides*) este cel de-al doilea animal țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. Din punct de vedere al evoluției, câinele-enot este una dintre cele mai vechi rase canine. Cu mult timp în urmă, trăia în Orientul Îndepărtat. Pentru a-i crește și mai mult blana, câinele-enot a fost naturalizat în diferite zone ale fostei Uniuni Sovietice, începând cu anii 1930. S-a răspândit relativ către vest și, în zilele noastre, trăiește pe o suprafață extinsă comparabilă cu suprafața Franței. A apărut în Republica Cehă încă din ani 1970. Câinele-enot este un animal omnivor. S-a demonstrat că din categoria animalelor predispuse la rabie face parte și câinele-enot. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la câinele-enot. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câinele-enot reprezintă metode demonstrative și precise pentru detectarea rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru câinii-enot (*Nyctereutes procyonoides*) și dacă doza recomandată este administrată oral în mod repetat. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – câinele-enot (Nyctereutes procyonoides))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	M21	3 luni	♀	bună	
2	M22	3 luni	♀	bună	
3	M23	3 luni	♂	bună	
4	M24	3 luni	♀	bună	
5	M25	3 luni	♂	bună	
6	M26	3 luni	♀	bună	
7	M27	6 luni	♀	bună	
8	M28	6 luni	♂	bună	
9	M29	6 luni	♂	bună	
10	M30	6 luni	♂	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)
- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 I (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{6.1}/ ml (pentru prima vaccinare)
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 45 07 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.2}/ ml (pentru a doua vaccinare)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – câinele-enot
- d2) **Gen sau rasă** – câinele-enot (Nyctereutes procyonoides)
- d3) **Categorie animal** – animale tinere cu o vârstă cuprinsă între 3 – 6 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – câinii-enot au fost ținuți câte 5 în boxe. Câinii-enot de același sex au fost întotdeauna ținuți în aceeași boxă. Boxa a fost împărțită într-o zonă interioară, prevăzută cu un spațiu de repaus pentru câinii-enot, și zona exterioară. Zona interioară a fost cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona totală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci câini-enot.
- d8) **Hrănirea animalelor** – câinii-enot au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea câinilor-enot. Câinii-enot au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Câinii-enot au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale



Doză de administrare – administrarea repetată a unei (1) doze de administrare (1 momeală)

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – vaccinare repetată a dozei de administrare recomandată

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii-enot supuși testelor au fost monitorizați pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei și celei de-a doua doze. După perioada de 180 de zile de după administrarea celei de-a doua doze, câinii-enot au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul câinilor-enot sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zooigienă.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 8 Siguranța administrării repetate a unei doze – la câinele-enot (*Nyctereutes procyonoides*)

Nr. ord.	Serie vaccin	Prima admin.		Evaluare clinică după prima administrare a vaccinului					
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni
1	M21	23.8.1999	34 06	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
2	M22			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
3	M23			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
4	M24			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
5	M25			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
6	M26			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
7	M27			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
8	M28			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
9	M29			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
10	M30			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde

Nr. ord.	Nr. ident. animal	A doua admin.		Evaluare clinică după a doua administrare a vaccinului						Examinare în laborator				
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic			
1	M21	15.3.2000	45 07	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	M22			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
3	M23			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
4	M24			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
5	M25			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
6	M26			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
7	M27			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
8	M28			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
9	M29			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
10	M30			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ



C. Siguranța administrării repetate a unei doze – la lup (Canis lupus)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării repetate pe cale orală a dozei recomandate de vaccin la 10 lupi (Canis lupus). La 180 de zile de la administrarea primei doze, nu au apărut simptome de rabie la lupii supuși testelor. Apoi, s-a administrat cea de-a doua doză de vaccin. După finalizarea celei de-a doua perioade de monitorizare de 180 de zile, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul lupilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei.

Expunere:

Lupul (Canis lupus) poate fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că lupii fac parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la lupi decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării atât primei administrări, cât și a celor repetate este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la lupi. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la lupi reprezintă metode demonstrative și precise pentru detectarea rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru lupi (Canis lupus) și dacă doza recomandată este administrată oral în mod repetat. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – lup (Canis lupus))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	W 51	3,5 luni	♂	bună	
2	W 52	3,5 luni	♀	bună	
3	W 53	4 luni	♂	bună	foarte agresiv
4	W 54	4 luni	♀	bună	
5	W 55	4 luni	♀	bună	
6	W 56	3,5 luni	♂	bună	
7	W 57	3,5 luni	♂	bună	
8	W 58	3,5 luni	♀	bună	foarte agresiv
9	W 59	3 luni	♀	bună	foarte agresiv
10	W 60	3 luni	♂	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 I (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.1}/ ml (pentru prima vaccinare) (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 45 07 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.2}/ ml (pentru a doua vaccinare) (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – lup
- d2) **Gen sau rasă** – lup (Canis lupus)
- d3) **Categorie animal** – lupi tineri cu o vârstă cuprinsă între 3,5 – 4 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe (grădini zoologice, etc.)
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – lupii au fost ținuți câte 5 în boxe. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu un spațiu de repaus pentru lupi, și zona exterioară. Zona interioară era cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci lupi.
- d8) **Hrănirea animalelor** – lupii au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea lupilor. Lupii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Lupii au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – administrarea repetată a unei (1) doze de administrare (1 momeală)

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – vaccinare repetată a dozei de administrare recomandată

Monitorizarea reacțiilor generale – lupii supuși testelor au fost monitorizați pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei și celei de-a doua doze. După perioada de 180 de zile de după administrarea celei de-a doua doze, lupii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul lupilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonozii.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 15 Siguranța administrării repetate a unei doze – la lup (Canis lupus)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Prima admin.		Evaluare clinică după prima administrare a vaccinului					
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni
1	W51	26.8.1999	34 06	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
2	W52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
3	W53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
4	W54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
5	W55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
6	W56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
7	W57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
8	W58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
9	W59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
10	W60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde

Nr. ord.	Nr. ident. animal	A doua admin.		Evaluare clinică după a doua administrare a vaccinului						Examinare în laborator		
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic	
1	W51	8.3.2000	45 07	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	W52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
3	W53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
4	W54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
5	W55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
6	W56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
7	W57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
8	W58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
9	W59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
10	W60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ



D. Siguranța administrării repetate a unei doze – la câinele fără stăpân (Canis lupus familiaris)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării repetate pe cale orală a dozei recomandate de vaccin la 10 câini (Canis lupus familiaris). Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei doze, nu au apărut simptome de rabie la câinii supuși testelor. Apoi, s-a administrat cea de-a doua doză de vaccin. După finalizarea perioadei de monitorizare de 180 de zile, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul câinilor a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei.

Expunere:

Câinele (Canis lupus familiaris) poate fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că din categoria animalelor predispuse la rabie face parte și câinele. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la câini decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării atât primei administrări, cât și a celor repetate este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la câini. Metodele de laborator utilizate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la câine reprezintă metode demonstrative și precise de detectare a rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru câini (Canis lupus familiaris) dacă doza recomandată este administrată oral în mod repetat. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 l (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.1}/ ml (pentru prima vaccinare) (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 45 07 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.2}/ ml (pentru a doua vaccinare) (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – câine
- d2) **Gen sau rasă** – câinele (Canis lupus familiaris)
- d3) **Categorie animal** – câini tineri cu o vârstă cuprinsă între 3 – 4 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de la crescătoria proprie Bioveta, a.s.
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – câinii au fost ținuți câte 5 în boxe. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu un spațiu de repaus pentru câini, și zona exterioară. Zona interioară a fost cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona integrală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci câini.
- d8) **Hrănirea animalelor** – câinii au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea câinilor. Câinii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Câinii au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – administrarea repetată a unei (1) doze de administrare (1 momeală)

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – vaccinare repetată a dozei de administrare recomandată.

Monitorizarea reacțiilor generale – câinii supuși testelor au fost monitorizați pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei și celei de-a doua doze. După perioada de 180 de zile de după administrarea celei de-a doua doze, câinii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul câinilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonozii.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 16 Siguranța administrării repetate a unei doze – la câine (Canis lupus familiaris)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Prima admin.		Evaluare clinică după prima administrare a vaccinului					
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni
1	D51	26.8.1999	34 06	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
2	D52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
3	D53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
4	D54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
5	D55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
6	D56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
7	D57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
8	D58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
9	D59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
10	D60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde

Nr. ord.	Nr. ident. animal	A doua admin.		Evaluare clinică după a doua administrare a vaccinului						Examinare în laborator	
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic
1	D51	8.3.2000	45 07	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
2	D52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
3	D53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
4	D54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
5	D55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
6	D56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
7	D57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
8	D58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
9	D59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
10	D60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ



E. Siguranța administrării repetate a unei doze – la șacalul auriu (Canis aureus)

Rezumat:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. a fost testat pe durata administrării repetate pe cale orală a dozei recomandate de vaccin la 10 șacali aurii (Canis aureus). Pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei doze, nu au apărut simptome de rabie la șacali aurii supuși testelor. Apoi, s-a administrat cea de-a doua doză de vaccin. După finalizarea perioadei de monitorizare de 180 de zile, toate animalele testate au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creierul șacalilor aurii a fost testată prin intermediul metodelor de laborator. Diagnosticarea post mortem nu a stabilit prezența rabiei.

Expunere:

Șacalul auriu (Canis aureus) poate fi specia țintă pentru administrarea vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet.. S-a demonstrat că șacalul auriu face parte din categoria animalelor predispuse la rabie. Doza infecțioasă a virusului rabic este de câteva ori mai scăzută la șacalii aurii decât la alte specii de animale cu sânge cald sau păsări. Perioada de 180 de zile destinată monitorizării atât primei administrări, cât și a celor reperate, este suficient de lungă pentru a lăsa timp simptomelor clinice de rabie să apară la șacalul auriu. Metodele de laborator aplicate pentru diagnosticarea „post mortem” a rabiei la șacalii aurii reprezintă metode demonstrative și precise de detectare a rabiei la animale, după finalizarea testului.

Concluzie:

Vaccinul LYSVULPEN por. ad us. vet. este inofensiv pentru șacalii aurii (Canis aureus) și dacă doza recomandată se administrează oral în mod repetat. Rezultatele au fost obținute pe baza monitorizării clinice de după administrarea vaccinului și pe baza examinării „post mortem” din laborator, de după finalizarea testului.

Lista animalelor supuse testului inofensiv de administrare
a unei singure supradoze și caracteristicile acestora
(categorie – șacalul auriu (Nyctereutes procyonoides))

Nr. ord. animal	Nr. ident. animal	Caracteristicile animalului			Observații
		vârstă	sex	stare de sănătate	
1	GJ51	6 luni	♂	bună	
2	GJ52	6 luni	♀	bună	foarte agresiv
3	GJ53	3 luni	♂	bună	
4	GJ54	3 luni	♀	bună	
5	GJ55	3,5 luni	♀	bună	
6	GJ56	5 luni	♂	bună	foarte agresiv
7	GJ57	5 luni	♂	bună	foarte agresiv
8	GJ58	5 luni	♀	bună	
9	GJ59	5 luni	♂	bună	
10	GJ60	5 luni	♀	bună	

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)

- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei**
 - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)
 - test biologic pe șoareci (Koprowski, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 l (temperatură 2 - 8°C)

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 34 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.1}/ ml (pentru prima vaccinare) (în scopul verificării, virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 45 07 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{7.2}/ ml (pentru a doua vaccinare) (în scopul verificării virusul a fost concentrat în doza TCID₅₀ = 1 x 10 x 8.0/ml)
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – șacal
- d2) **Gen sau rasă** – șacal auriu (Canis aureus)
- d3) **Categorie animal** – șacali tineri cu o vârstă cuprinsă între 3 – 6 luni
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe (grădini zoologice, etc.)
- d5) **Identificare** – tatuaj pe ureche
- d6) **Număr de animale** – 10
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – șacalii au fost ținuți câte 5 în boxe. Boxa era împărțită într-o construcție interioară, prevăzută cu un spațiu de repaus pentru șacali, și zona exterioară. Zona interioară a fost cimentată, iar zona exterioară era reprezentată de o porțiune acoperită cu nisip. Zona totală (adică platforma construcției interioare plus zona adiacentă) avea o mărime de 10 metri pătrați pentru cinci șacali.
- d8) **Hrănirea animalelor** – șacalii au fost hrăniți cu amestec furajer granulat pentru câini, fabricat de un producător comercial, și acreditat pe teritoriul Republicii Cehe, dar și cu resturi de carne fiartă și intestine selectate din abatoare autorizate sanitar. Dozele de amestec furajer granulat au fost determinate pe baza recomandării producătorului în funcție de greutatea șacalilor. Șacalii au fost hrăniți o dată pe zi, la ora 14:00. Șacalii au putut bea apă după poftă.
- d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané
- d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii si monitorizarea reactiilor locale si generale

Doză de administrare – administrarea repetată a unei (1) doze de administrare (1 momeală)

Cale de administrare – orală (consum natural); dovada consumului a constat în blisterele de plastic-aluminiu găsite sparte.

Plan de administrare – vaccinare repetată a dozei de administrare recomandată

Monitorizarea reacțiilor generale – șacalii supuși testelor au fost monitorizați zilnic pe durata unei perioade de 180 de zile de la administrarea primei și celei de-a doua doze. După perioada de 180 de zile de după administrarea celei de-a doua doze, șacalii au fost sacrificați fără suferință.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul șacalilor sacrificați s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973) și testul biologic pe șoareci (Koprowski, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonozii.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Tabel nr. 17 Siguranța administrării repetate a unei doze – la șacalul auriu (*Canis aureus*)

Nr. ord.	Nr. ident. animal	Prima admin.		Evaluare clinică după prima administrare a vaccinului					
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni
1	GJ51	2.9.1999	34 06	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
2	GJ52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
3	GJ53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
4	GJ54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
5	GJ55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
6	GJ56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
7	GJ57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
8	GJ58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
9	GJ59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde
10	GJ60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde

Nr. ord.	Nr. ident. animal	a doua admin.		Evaluare clinică după a doua administrare a vaccinului						Examinare în laborator				
		zi	serie	1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni	fluorescență directă	test biologic			
1	GJ51	16.3.2000	45 07	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ	
2	GJ52			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
3	GJ53			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
4	GJ54			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
5	GJ55			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
6	GJ56			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
7	GJ57			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
8	GJ58			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
9	GJ59			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ
10	GJ60			corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	corespunde	negativ	negativ

E. Siguranța pentru rozătoarele crescute în libertate, testate în condiții de laborator (dovada faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Rezumat:

a) Monitorizare clinică

Vaccinarea s-a făcut prin administrarea virusului rabic, tulpina SAD-Bern la 50 de șoareci de câmp într-o cantitate de $0.03 \times (10^{7.5} \text{ TCID}_{50})$. Apoi, șoarecii de câmp vaccinați au fost ținuți la un loc cu 50 de șoareci de câmp nevaccinați (animale de control). Pe durata perioadei de monitorizare de 180 de zile, nu s-au raportat decese la animalele testate pentru rabie din niciunul din cele două grupuri. Din grupul animalelor la care virusul a fost administrat, un șoarece de câmp a murit, iar din grupul de control, doi șoareci de câmp au murit. Nu s-a diagnosticat prezența rabiei la niciunul din animalele moarte. După finalizarea testului, toate animalele au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic în creier a fost testată prin intermediul metodei fluorescenței directe. Nu s-a dovedit prezența rabiei la niciunul din cazuri.

b) Dovada prezenței virusului rabic

După administrarea vaccinului de virus rabic, tulpina SAD-Bern în cantitate de $0.03 \times (10^{7.5} \text{ TCID}_{50})$ la 50 de șoareci de câmp după plasarea animalelor vaccinate la un loc cu 50 de șoareci de câmp la care nu s-a administrat virusul (animale de control), prezența virusului rabic a fost verificată prin metoda fluorescenței directe în nasofaringele, glanda salivară, nervul ischiadic, măduva spinării, musculatura membrului inferior, ficatul și creierul animalelor din ambele grupuri. Examinarea s-a făcut pe 10 dintre animalele din fiecare grup în cea de-a 7-a, a 14-a, a 21-a, a 28-a și cea de-a 35-a zi de la începerea testului. La șoarecii de câmp la care s-a administrat virusul, prezența virusului a fost demonstrată în cea de-a 7-a zi în nasofaringele de la 8 animale (80%) și în ziua a 14-a în nasofaringele unui (1) animal (10%). Nu s-a dovedit prezența rabiei la niciunul din animalele de control.

Expunere:

Dovada faptului că vaccinarea virusului rabic, tulpina SAD-Bern nu se răspândește de la un animal la altul printre rozătoarele crescute în libertate, este extrem de importantă. Rozătoarele crescute în libertate (șoarecii, șoarecii de câmp, popândăul etc.) sunt predispuse la virusul rabic și, prin administrarea obișnuită a vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. (la fel ca și în cazul altor preparate similare, produse de alte companii, adică prin distribuire gratuită în domenii diferite), se poate întâmpla ca (și se întâmplă) ca momeala amplasată să fie consumată de alte animale decât cele țintă – vulpea roșie sau câinele-enot. Unul dintre aceste grupe de animale, care nu fac ținta studiului, sunt rozătoarele crescute în libertate. Acestea consumă numai substanța momelii, dar sunt cazuri în care mușcă prin blisterele de plastic-aluminiu, venind în contact cu virusul vaccinal plasat în interiorul blisterelor (s-au găsit blistere avariate de rozătoare). Este foarte important din punct de vedere al epizootologiei să se dovedească faptul că apariția și răspândirea rabiei este total exclusă în cazul unui contact de acest tip.

Șoarecele de câmp a fost folosit ca model de rozătoare crescută în libertate pentru testul menit să demonstreze răspândirea tulpinii SAD-Bern. Pe teritoriul țării noastre, acesta este animalul cel mai răspândit (trăiește în colonii), în special pe miriști și câmpuri întinse de trifoi și lucernă, acolo unde contactul intens între indivizii din colonii apare în mod frecvent. Este important ca, pe perioada acestui contact intens, șoarecele de câmp să fie principala sursă de nutriție pentru vulpea roșie și alți prădători (bursucul, dihorul, nevăstuica, mistrețul sălbatic, șoricarul, vindereul și multe altele). În perioada în care prezența acestor rozătoare este excesivă, ele sunt adesea vâdate de pisicile domestice, ca urmare a diversității nutriționale pe care acestea o caută. Cel mai des acestea sunt pisici domestice și nu pisici sălbatice care vânează șoareci de câmp. Apoi, pisicile domestice se întorc acasă și intră în contact cu animalele domestice și oamenii. Evitarea transmiterii vaccinării virusului rabic, tulpina SAD-Bern printre

rozătoarele crescute în libertate este importantă nu numai din punct de vedere al transmiterii infecției, ca urmare a contactului dintre diferite specii de animale, dar și din punct de vedere al transmiterii infecției cu rabie la oameni. O atenție deosebită trebuie acordată patogenității virusurilor vaccinale administrate pe care orală pentru imunizarea animalelor împotriva rabiei. Acest lucru este atestat de un număr de lucrări recent publicate (de exemplu, Follmann and partners, 1996).

Concluzie:

Pe baza unui experiment realizat pe șoareci de câmp, s-a demonstrat că vaccinarea virusului rabic, tulpina SAD-Bern nu se răspândește de la un animal la altul, în cazul rozătoarelor crescute în libertate.

Procedura de testare

a) Descrierea metodelor aplicate:

- a1) **Monitorizarea și evaluarea reacțiilor generale** – monitorizarea generală a animalului și înregistrarea reacțiilor generale (acordând o atenție deosebită înregistrării simptomelor clinice asociate cu rabia)
- a2) **Diagnosticarea „post mortem” a rabiei** - imunofluorescență directă (Dean and Abelseth, 1973)

b) Descrierea instrumentelor folosite:

- microscop imunofluorescent – tip: Phasenkontrast mit Mikroval – Mikroskopen, Carl – Zeiss Jena
- seringi de 0.1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și 5% CO₂ – produs marca Hereus
- frigider Calex 250 l (temperatură 2 - 8°C)
- instrumente de disecție

c) Descrierea materialelor folosite:

- caiet pentru notițe
- LYSVULPEN por. ad us. vet., seria 36 06 – cu titrul TCID₅₀ = 10^{8.0}/ ml
- conjugat antirabic și conjugat negativ, produs de Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d) Animale testate:

- d1) **Specie** – șoarece de câmp
- d2) **Gen sau rasă** – șoarece de câmp (*Microtus arvalis*)
- d3) **Categorie animal** – animale adulte (categoriile variate de vârstă și sex)
- d4) **Origine** – animalele au provenit de pe teritoriul Republicii Cehe
- d5) **Identificare** – combinații variate ca urmare a creșterii ambelor urechi
- d6) **Număr de animale** – 200
- d7) **Condițiile în care animalele au fost ținute** – șoarecii de câmp au fost ținuți în recipiente de plastic clasice pentru creșterea șoarecilor de laborator. Capacul superior a fost confecționat din fire inoxidabile. Recipientele erau localizate în incinta unor încăperi prevăzute cu aer condiționat și cu o temperatură, umiditate și circulație a aerului stabile. Șoarecii de câmp au fost păstrați câte zece în recipient.

d8) **Hrănirea animalelor** – șoarecii de câmp au fost hrăniți cu un amestec furajer granulat pentru șoareci. S-au adăugat verdețuri, bucăți de fructe (mere, pere) și furaje din sfeclă. Apa a putut fi băută după poftă din picurătoare automate pentru apă.

d9) **Numele proprietarului animalelor** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

d10) **Denumirea institutului care realizează testele** – Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané

e) **Doza de administrare, calea de administrare, planul de administrare, planul de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și generale**

Doză de administrare – 0.03 ml de vaccin LYSVULPEN por. ad us. vet. comercial, seria 36 06, cu titrul $10^{8.0}$ TCID₅₀/ml

Cale de administrare – orală – administrare prin sondare în cavitatea bucală.

Plan de administrare

a) 50 de șoareci de câmp – 0.03 ml pe cale orală (la 50 de șoareci de câmp nu s-a administrat vaccinul – grup de control). Cinci șoareci de câmp vaccinați și ne-vaccinați au fost păstrați într-un singur recipient.

b) 50 de șoareci de câmp – 0.03 ml pe cale orală (la 50 de șoareci de câmp nu s-a administrat vaccinul – grup de control). Cinci șoareci de câmp vaccinați și ne-vaccinați au fost păstrați într-un singur recipient.

Monitorizarea reacțiilor generale

a) Perioada de monitorizare a durat 180 de zile (pentru depistarea simptomelor clinice de rabie). După finalizarea testului, animalele au fost sacrificate și s-a verificat prezența rabiei în creierul rozătoarelor prin intermediul fluorescenței directe.

b) Zece animale vaccinate și zece animale nevaccinate au fost sacrificate după 7, 14, 21, 28 și 35 de zile. Apoi s-a făcut examinarea prin intermediul fluorescenței directe a nasofaringelui, glandei salivare, nervului ischiadic, măduvei spinării, musculaturii membrului inferior, ficatului și creierului.

Rezultatele sunt afișate în tabelele nr. 9 și nr. 10.

Diagnosticarea „post mortem” a existenței rabiei, în laborator – diagnosticarea prezenței rabiei în creierul animalelor sacrificate s-a realizat folosind metoda fluorescenței directe (Dean and Abelseth, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie, 1953

Educație: 1969 – 1973: Colegiul agricol și de industrie – specializare: medicină veterinară, în Kroměříž

1973 – 1979: Universitatea de medicină veterinară din Brno

1 Aprilie, 1979: Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, începerea activității

1979 – 1980: Stagiul militar la Serviciul Veterinar al Poliției de Frontieră

1980 – 1987: Inspector inginerie independent al departamentului de control și management al calității

1985 – 1990: lucrare de diplomă – obiect de studiu: disciplina științifică epizotologie și zoonozii.

1987 – 1995: Șeful Departamentului de control și management al calității:

din 1 februarie, 1995: Director de producție al Bioveta, s.r.o.

din 1 ianuarie, 1998 – prezent: Director de producție și al departamentului de dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice veterinare

Membrul al următoarelor organizații de specialitate:

Societatea cehoslovacă de microbiologie – din 1980



BIOVETA, a. s., Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic,
tel.: 00420 517 318 500 e-mail: comm@bioveta.cz

Societatea științifică cehoslovacă în domeniul micologiei – din 1980

Societatea cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicatii:

Autor sau co-autor - 101 publicații profesionale.

Autor certificate:

Autor sau co-autor - 15 brevete și 5 modele de utilitate.

Rapoarte finale:

Autor sau co-autor - 9 rapoarte finale referitoare la preparatele intrate în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virologie

Doctor-medic veterinar Vladimír Vrzal, CSc.

Siguranța pentru rozătoarele crescute în libertate, testate în condiții de laborator (dovada faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Tabel nr. 9

a) Evaluare clinică

Nr. animale	Specie	Administrarea virusului rabic tulpina, SAD-Bern LYSVULPEN por. ad us. vet. seria 36 06	Data administrării	Perioadă de monitorizare						Diagnosticarea rabiei folosind metoda fluorescenței directe	Obs.
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni		
50 buc	șoarece de câmp	ă $0,03 \times 10^{8,0} \text{TCD}_{50}$	18.8.1999	coresp.	coresp.	coresp. 1 animal mort (negativ pt. rabie)	coresp.	coresp.	coresp.	negativ	animalele la care s-a administrat virusul și animalele de control au fost ținute la un loc în condiții obișnuite (5+5 animale)
50 buc	șoarece de câmp	fără administrarea virusului (animale de control)	-	coresp.	coresp.	coresp. 1 animal mort (negativ pt. rabie)	coresp. 1 animal mort (negativ pt. rabie)	coresp.	coresp.	negativ	animalele la care s-a administrat virusul și animalele de control au fost ținute la un loc în condiții obișnuite (5+5 animale)

Siguranța pentru rozătoarele crescute în libertate, testate în condiții de laborator (dovada faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Tabel nr. 10

b) Diagnosticarea rabiei

Nr. animale	Specie	Administrarea virusului rabic tulpina, SAD-Bern LYSVULPEN por. ad us. vet. serie 36 06	Data administrării	Diagnosticarea rabiei prin organe	Diagnosticarea rabiei prin metoda fluorescenței directe					Obs.
					a 7-a zi	a 14-a zi	a 21-a zi	a 28-a zi	a 35-a zi	
50 buc	șoarece de câmp	à 0,03 x 10 ^{8,0} TCD ₅₀	18.8.1999	Nasofaringe	8 anim. pozitive (80%) 2 anim. negative (20%)	1 anim. pozitiv (10%) 9 anim. negative (90%)	negativ	negativ	negativ	animalele la care s-a administrat virusul și animalele de control au fost ținute la un loc în condiții obișnuite (5+5 animale)
				Glandele salivare	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Nervul ischiadic	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Măduva spinării	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Musculatura membrului inferior	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Ficat	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Creier	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	

Siguranța pentru rozătoarele crescute în libertate, testate în condiții de laborator (dovada faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Tabel nr. 10b

b) Diagnosticarea rabiei

Nr. animale	Specie	Administrarea virusului rabic tulpina, SAD-Bern LYSVULPEN por. ad us. vet. seria 36 06	Data administrării	Diagnosticarea rabiei prin organe	Diagnosticarea rabiei prin metoda fluorescenței directe					Obs.
					a 7-a zi	a 14-a zi	a 21-a zi	a 28-a zi	a 35-a zi	
50 buc	șoarece de câmp	fără administrarea virusului (animale de control)	-	Nasofaringe	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	animalele la care s-a administrat virusul și animalele de control au fost ținute la un loc în condiții obișnuite (5+5 animale)
				Glandele salivare	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Nervul ischiadic	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Măduva spinării	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Musculatura membrului inferior	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Ficat	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	
				Creier	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	

5. Siguranța pentru rozătoarele crescute în libertate, testate în condiții de laborator (dovada faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Rezumat:

S-a administrat în mod normal (prin înghițire spontană din adaptorul cu bilă) virus rabic, tulpina SAD-Bern într-o cantitate de aprox. 0.5 ml de virus cu un titru de $10^{6.1}$ TCID₅₀/ ml la 50 de șoareci albi de laborator; apoi, aceste animale au fost ținute la un loc cu 50 de șoareci albi de laborator care nu au fost vaccinați în prealabil (animale de control). Pe durata perioadei de monitorizare de 180 de zile, nu s-au raportat decese la animalele testate pentru rabie în niciunul din cele două grupuri de animale. Un șoarece din grupul celor vaccinați a murit și un șoarece din grupul animalelor de control a murit de asemenea. Nu s-a diagnosticat prezența rabiei la niciunul din animale moarte. După finalizarea testului, toate animalele au fost sacrificate, iar prezența virusului rabic a fost testată în creierul acestora prin intermediul metodei fluorescenței directe.

Expunere:

Șoarecele alb de laborator a fost folosit ca și animal model în scopul demonstrării faptului că virusul rabic, tulpina SAD-Bern nu se răspândește de la o rozătoare la alta. Aceste animale sunt predispuse la rabie și sunt de asemenea folosite ca animale testate în scop demonstrării prezenței virusului rabic la testul biologic.

Virusul SAD-Bern a fost administrat șoarecilor în mod natural, adică șoarecii au băut dintr-un adaptor cu bilă. Spre deosebire de administrarea virusului prin sondare în cavitatea bucală, spre exemplu, această metodă de administrare nu afectează zona delicată și sensibilă a nasofaringelui. Aceste răni neobișnuite sau pătrunderea nefirească a virusului în turbinele nazale poate cauza decesul animalelor ca urmare a rabiei. Metoda obișnuită de administrare a virusului rabic, tulpina SAD-Bern la șoarecii testați a dat naștere unor condiții identice cu cele din libertate, din zonele unde rozătoarele intră în contact cu virusul vaccinal acoperit cu momeală. Prezența rabiei nu a fost diagnosticată după ce virusul a fost administrat în mod natural la animale și nu a apărut nici la animalele de control. Prezența virusul rabic nu a fost detectată nici în urma examinării post mortem.

Concluzie:

În cazul rozătoarelor crescute în laborator s-a demonstrat pe baza unui experiment că, în cazul șoarecilor albi de laborator, după administrarea pe cale naturală, virusul rabic, tulpina SAD-Bern nu se răspândește de la un animal la altul.

Protocol de testare

a) Descrierea metodelor aplicate

- a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor totale – monitorizarea totală a animalului și înregistrarea reacțiilor totale (cu atenție specială acordată înregistrării simptomelor clinice asociate rabiei)
- a2) Diagnosticarea „post mortem” a rabiei – imunofluorescență directă (Dean și Abelseth, 1973)

b) Descrierea instrumentelor aplicate:

- microscop pentru imunofluorescență – tip: Phasenkontrast mit Mikroval- Mikroskopen, Carl-Zeiss Jena
- seringi de 0,1 ml – tip: Hemilton
- incubator – 37 °C și CO₂ 5% - de fabricație Hereus
- frigider 250 l Calex (temperatură între 2 și 8 °C)
- instrumentar de disecție

c) Descrierea materialelor utilizate:

- notes pentru luarea notițelor
- LYSVULPEN por. ad us. vet., lot 36 06 – titru virus TCID₅₀ = 10^{8,0}/ml
- conjugat antirabic și negativ de fabricație Bioveta, a.s. Ivanovice na Hané

d) Animale de testare utilizate

- d1) Specia – șoarece
- d2) Clasă sau soi – șoarece alb de laborator
- d3) categoria animalelor – animale cu greutatea între 15 și 18 gr, de diferite sexe
- d4) Origine – compania Anlab, Praga
- d5) Identificare – etichetarea acvariilor, găurirea urechii
- d6) Număr animale – 100
- d7) Condițiile în care au fost ținute animalele – animalele au fost ținute în acvarii din plastic tradiționale destinate creșterii șoarecilor de laborator. Capacul a fost realizat din sârmă inoxidabilă. Acvariile au fost păstrate în săli cu aer condiționat la temperatură, umezeală și flux de aer stabile. Șoarecii au fost crescuți câte zece într-un acvariu.
- d8) Hrănirea animalelor – animalele au fost hrănite cu hrană amestec sub formă de granule, disponibilă în comerț, destinată șoarecilor. Apa a fost disponibilă ad libitum din dozatoare automate de apă.
- d9) Denumirea proprietarului animalelor - Bioveta, a.s. Ivanovice na Hané
- d10) Denumirea institutului de testare - Bioveta, a.s. Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, modalitatea de administrare, schema de administrare, schema de monitorizare a temperaturii și monitorizarea reacțiilor locale și totale

Doza administrată – aprox. 0,5 ml de virus – vaccin LYSVULPEN disponibil în comerț, por. ad us. vet., lot 36 06, titru TCID₅₀ = 10^{8,0}/ml

Modalitatea de administrare – per os din pompa de apă

Schema de administrare

În cazul a 50 de șoareci albi de laborator li s-a administrat aprox. 0,5 ml p.o (în cazul a 50 de șoareci nu s-a administrat vaccinul – grup de control). În fiecare acvariu s-au ținut cinci șoareci vaccinați și cinci nevaccinați.

Monitorizarea reacțiilor totale

Animalele au fost monitorizate timp de 180 de zile (monitorizarea simptomelor clinice ale rabiei). După finalizarea testului, animalele au fost sacrificați, diagnosticându-se rabia în creierul acestora cu ajutorul metodei fluorescenței directe.

Rezultatele sunt prezentate în tabelul nr. 11.

Diagnosticarea „post mortem” a rabiei în laborator – rabia a fost diagnosticată în creierul animalelor sacrificate cu ajutorul metodei fluorescenței directe (Dean și Abelseth, 1973).

Numele, adresa, funcția și calificarea persoanei care a efectuat analiza:

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Născut la 26 noiembrie 1953

Studii: 1969 – 1973: Liceul Tehnico-agricol – specializarea veterinară, Kromeriz

1973-1979 Facultatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, începerea activității

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul veterinar al Poliției de frontieră

1980-1987: Controlor tehnic independent la Departamentul de control calitate și management

1985-1990: studii pentru teza în domeniul epizotologiei și zoigienei

1987-1995: Șeful departamentului de control calitate și management

Din 1 februarie 1995: Director de producție la Bioveta s.r.o.

Din 1 ianuarie 1998 până în prezent: Directorul secției de producție și dezvoltare a biopreparatelor și produselor farmaceutice de uz veterinar

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de fungologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autorul și coautorul a 101 publicații profesionale.

Certificate de autor:

Este autorul și coautorul a 15 brevete și 5 proiecte.

Rapoarte finale de recenzie:

Este autorul și coautorul a 19 rapoarte finale pentru preparate puse în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virusologie

MVDr. Vladimír Vrzal, CSc.

Siguranța rozătoarelor de laborator, testate în condiții experimentale (demonstrarea faptului că tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul)

Tabelul nr. 11

Evaluare clinică

Nr. animale	Specia	Administrarea virusului SAD-Bern LYSVULPEN por. Ad us. vet. Lot 36 06	Ziua administrării	Diagnosticarea rabiei la nivelul organelor						Diagnosticarea rabiei prin metoda fluorescenței directe	Notă
				1 lună	2 luni	3 luni	4 luni	5 luni	6 luni		
50 buc.	Șoarece alb de laborator	La aprox. 0,5 ml x 10 ^{8,0} TCID ₅₀ (adăpare naturală)	18.8.1999	conform	conform	conform 1 buc. mort (rabie – neg.)	conform	conform	conform	Negativ	Creșterea la comun a animalelor cărora li s-a administrat virusul împreună cu animalele de control (5+5 animale)
50 buc.	Șoarece alb de laborator	Fără administrarea virusului (animale de control)	-	conform	conform	conform	conform 1 buc. mort (rabie – neg.)	conform	conform	Negativ	Creșterea la comun a animalelor cărora li s-a administrat virusul împreună cu animalele de control (5+5 animale)

6. Examinarea performanței reproductive

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet” destinat imunizării pe cale orală a vulpilor conține virusul rabic viu atenuat cu tulpină vaccinală SAD-Bern. Animalele țintă sunt vulpile roșii (*Vulpes vulpes*) și enoții (*Nyctereutes procyonoides*). După consumarea momelii și îngurgitarea blisterului de aluminiu, virusul viu intră în contact cu sistemul imunitar în regiunea nazofaringiană inducând dezvoltarea anticorpilor specifici antirabici de neutralizare a virusului și dezvoltarea imunității protectoare a animalului vaccinat. Administrarea vaccinului antirabic pentru imunizarea orală a vulpilor și principiul dezvoltării imunității protectoare active nu au nici un impact negativ asupra parametrilor de reproducere a speciei țintă. Monitorizarea parametrilor de reproducere la specia țintă nu se bazează pe vreun test (nu sunt animale domestice). Dovezile se bazează pe populația de vulpi în continuă creștere în ciuda imunizării antirabice areale efectuate timp de mai mulți ani.

7. Examinarea funcțiilor imunologice

După consumarea momelii în capsulă de aluminiu/plastic și după desfacerea acesteia, virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern intră în contact cu cavitatea orală a animalelor țintă și stimulează sistemul imunitar al regiunii nazofaringiene ducând la formarea anticorpilor specifici antirabici de neutralizare a virusului. În consecință, acești anticorpi creează o imunitate protectoare la animalele imunizate împotriva infecțiilor cu virusul rabic. După consumare momelii, virusul vaccinului ajunge în tractul alimentar și digestiv unde este rapid inactivat, în special datorită pH-ului scăzut al stomacului. De aceea, aici nu se formează răspuns imun.

Astfel, imunitatea împotriva infecției cu rabie se formează în mod imunobiologic natural și nu are impact negativ asupra organelor imunitare ale animalelor.

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet” pentru imunizarea pe cale orală a vulpilor este destinat și a fost verificat pe două specii de animale libere – vulpea roșie (*Vulpes vulpes*) și enotul (*Nyctereutes procyonoides*). Pe lângă imunizarea orală împotriva rabiei, nu s-a efectuat nicio altă imunizare împotriva altor boli infecțioase și nu s-a administrat nici un tratament profilactic la niciuna dintre specii.

Din acest motiv, nu s-au realizat experimente exacte de monitorizare a funcției imunobiologice.

8. Cerințele specifice ale vaccinurilor vii

8.1. Propagarea tulpinii vaccinale

Virusul rabic viu atenuat cu tulpină vaccinală SAD-Bern este destinat exclusiv imunizării orale a animalelor sălbatice împotriva rabiei. Este ambalat în blistere de plastic/aluminiu, acoperite și ascunse într-o momeală care atrage animalele țintă. Momelile conținând virusul de vaccinare sunt amplasate în câmp manual sau din avion. Animalele țintă consumă aceste momeli, iar după deschiderea blisterelor de plastic/aluminiu, virusul viu intră în contact cu organele din regiunea nazofaringiană imunocompetente pentru dezvoltarea anticorpilor specifici antirabici de neutralizare a virusului și pentru dezvoltarea imunității protectoare a animalelor imunizate. Animalele vaccinate nu excretă virusul vaccinal SAD-Bern întrucât virusul care nu rămâne la nivelul regiunii nazofaringiene, este inactivat rapid la nivelul tractului alimentar și digestiv al animalelor, în special datorită pH-ului scăzut al stomacului.

Având în vedere particularitatea administrării (distribuția în cele mai variate condiții din teren), se întâmplă adesea ca momelile să fie consumate parțial sau în întregime și de către alte animale decât animalele țintă. Se consideră extrem de important să se verifice dacă tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul în cazul rozătoarelor libere în condiții naturale. Rezultatele acestei verificări efectuate în condiții experimentale sunt prezentate în partea IIIC, Capitolele 4 și 5 din Documentația de înregistrare. S-a demonstrat și dovedit în mod exact că, în condiții de laborator, tulpina vaccinală SAD Bern nu se răspândește de la un animal la altul nici în cazul rozătoarelor sălbatice, și nici la cele domestice.

Demonstrarea faptului că, în condiții naturale, tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul în cazul rozătoarelor sălbatice rezultă și din utilizarea efectivă în practică a vaccinului „LYSVULPEN por. ad us. vet” cu virusul vaccinal SAD Bern timp de șapte ani. Din 1992, când acest preparat imunobiologic a fost utilizat pentru prima dată în Cehia, și până în 2002, s-au amplasat în total 17.744.000 momeli vaccinale în Cehia. Toate cazurile pozitive de rabie la animale (atât la cele domestice, cât și la cele sălbatice) au fost analizate de Laboratorul Național de Referință pentru cazuri de Rabie din Liberec prin anticorpi monoclonali, făcându-se distincția dintre virusul nativ de virusul tulpinii vaccinale SAD Bern. În întreaga perioadă de administrare a vaccinului „LYSVULPEN por. ad us. vet.”, adică din 1992 până în 2002, prin această metodă s-au examinat în total 2368 de animale, inclusiv toate rozătoarele furnizate. Rabia cauzată de virusul rabic cu tulpina vaccinală SAD Bern nu a fost demonstrat în niciunul din cazuri la nicio specie, nici în cazul rozătoarelor sălbatice.

Concluzie:

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern nu se răspândește printre animalele țintă și nici în rândul altor specii de animale domestice sau sălbatice, inclusiv rozătoarele sălbatice. Rezultatele au fost obținute prin verificarea efectuată în condiții de laborator și pe baza evaluării și a verificării minuțioase efectuate în decursul utilizării efective în practică a vaccinului „LYSVULPEN por. ad us. vet.” în condiții de teren.

8.2. Răspândirea printre animalele vaccinate

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern este destinat exclusiv imunizării orale a animalelor sălbatice împotriva rabiei. Este ambalat în blistere de plastic/aluminiu, acoperite și ascunse într-o momeală care atrage animalele țintă. Momelile conținând virusul de vaccinare sunt amplasate în câmp manual sau din avion. Animalele țintă consumă aceste momeli, iar după deschiderea blisterelor de plastic/aluminiu, virusul viu intră în contact cu organele din regiunea nazofaringiană imunocompetente pentru dezvoltarea anticorpilor specifici antirabici de neutralizare a virusului și pentru dezvoltarea imunității protectoare a animalelor imunizate. Animalele vaccinate nu excretă virusul vaccinal SAD-Bern întrucât virusul care nu rămâne la nivelul regiunii nazofaringiene, este inactivat rapid la nivelul tractului alimentar și digestiv al animalelor, în special datorită pH-ului scăzut al stomacului.

Concluzie:

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina vaccinală SAD Bern nu se răspândește printre animalele vaccinate. Intră în contact și stimulează doar organele imunitare de la nivelul regiunii nazofaringiene la animalele imunizate.

8.3. Modificarea virulenței în cazul vaccinurilor atenuate

Virusul rabic cu tulpina vaccinală SAD Bern destinat imunizării animalelor sălbatice împotriva rabiei este un virus viu atenuat. Atenuarea (atenuare stabilă) a fost obținută prin repicare pe termen lung pe culturi tisulare de origine extraneurală. În acest mod și cu ajutorul acestei metode, virusul vaccinal SAD Bern și-a păstrat proprietățile imunogene corespunzătoare și și-a redus virulența. Virusul rabic cu tulpina SAD Bern este virulent doar administrat intracerebral șoarecilor albi, nefiind însă virulent în cazul acestei specii după administrare orală sau subcutanată. Nu este virulent după administrare orală la animalele țintă sau alte animale sălbatice (inclusiv rozătoare) și nu este virulent la animalele domestice (rezultatele testului sunt prezentate în partea III C din documentația de înregistrare).

Modificarea virulenței în cazul vaccinurilor atenuate are o importanță extraordinară în ceea ce privește administrarea acestui vaccin. De aceea, se acordă atenție sporită testării stabilității atenuării. Testarea stabilității atenuării a fost efectuată în toate fazele de lucru admisibile (5 faze de lucru din germenele principal al virusului) și rezultatul a fost corespunzător. De asemenea, testarea stabilității atenuării s-a

efectuat la fiecare lot al vaccinului livrat „LYSVULPEN por. ad us. vet.”, cu titlu de verificare finală a vaccinului înainte de livrare.

Concluzie:

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern destinat exclusiv imunizării orale a animalelor împotriva rabiei își păstrează o atenuare stabilă. Testarea acestui parametru biologic a fost efectuată la nivelul lotului germenilor principali și al lotului germenilor de lucru și este efectuat pe fiecare lot de vaccin înainte de livrare.

8.4. Proprietățile biologice ale tulpinii vaccinale

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern utilizat pentru imunizarea orală a animalelor împotriva rabiei are proprietățile biologice prezentate în tabelul nr. 12.

Concluzie:

Virusul rabic viu atenuat cu tulpina SAD Bern demonstrează că deține proprietăți corespunzătoare atât din punctul de vedere imunogenității și inofensivității, cât și alte proprietăți, îndeplinind toate cerințele stabilite pentru selectarea tulpinii vaccinale pentru imunizarea animalelor sălbatice împotriva rabiei, conform specificațiilor Farmacopeii.

Tabelul nr. 12

Proprietățile biologice ale tulpinii vaccinale SAD Bern

Proprietatea biologică	Caracteristici	Notă
Cultivarea pe culturi tisulare de origine extraneurală	Cultivarea pe culturi tisulare din rinichi de hamster	
Virulența după administrare i.c.	Virulent în cazul șoarecilor albi între 6-10 gr după administrarea a 0,03 ml i.c.	
Virulența după administrare s.c.	Nevirulent în cazul șoarecilor albi între 15-18 gr după administrarea a 0,2 ml s.c.	
Virulența după administrare p.o.	Nevirulent în cazul șoarecilor albi între 15-18 gr după administrarea p.o.	Partea IIIC din documentația de înregistrare
Virulența la vulpi și enoți	Nevirulent în urma administrării orale a dozei recomandate și a unei cantități de zece ori mai mari decât doza recomandată	Partea IIIC din documentația de înregistrare
Virulența la câini și pisici	Nevirulent în urma administrării orale a unei cantități de zece ori mai mari decât doza recomandată	Partea IIIC din documentația de înregistrare
Virulența la animale sălbatice	Tulpina virală nu se răspândește de la un animal la altul în cazul rozătoarelor sălbatice în condiții naturale și de laborator	Partea IIIC din documentația de înregistrare
Marker genetic	Tulpina virală are markeri genetici pe baza cărora se distinge de alte tulpini virale de rabie	Partea IIIC din documentația de înregistrare
Imunogenitate la vulpi și enoți	Induce imunitate protectoare	Partea IIIC din documentația de

	împotriva rabiei la speciile țintă – vulpi și enoți după administrare p.o.	înregistrare
--	--	--------------

8.5. Recombinarea sau substituirea genomilor tulpinilor

Virusul rabic al vaccinului cu tulpina SAD Bern utilizat pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei este un virus viu atenuat. Atenuarea a fost obținută prin repicare pe termen lung pe culturi tisulare de origine extraneurală. Astfel, virusul nu a fost obținut prin tehnologie recombinantă ca în cazul tulpinii rabice V-RG.

Concluzie:

Virusul rabic al vaccinului cu tulpina SAD Bern este un virus atenuat; nu este un virus obținut prin tehnologie genetică recombinantă.

9. Studiarea reziduurilor

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet.” utilizat pentru imunizarea orală a vulpilor este destinat exclusiv imunizării speciilor de animale sălbatice țintă împotriva rabiei. Vaccinul nu este destinat imunizării animalelor domestice și de fermă crescute pentru hrană. Din acest motiv, nu s-a efectuat studiul reziduurilor.

Un aspect special îl reprezintă adăugarea tetraciclinei clorhidrat în momeală ca biomarker, care face posibilă determinarea acesteia în oasele sau în dinții animalelor capturate și diagnosticarea consumului momelii cu vaccin de către animale.

Concluzie:

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet.” utilizat pentru imunizarea orală a vulpilor nu este destinat animalelor crescute pentru hrană.

10. Interacțiuni

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet.” utilizat pentru imunizarea orală a vulpilor este destinat exclusiv imunizării speciilor țintă: vulpile roșii și enoții. Imunizarea orală împotriva rabiei este doar unul din tratamentele preventive imunologice sau medicale efectuate asupra acestor specii speciale de animale sălbatice. Din acest motiv, nu s-a efectuat studiul interacțiunilor.

Concluzie:

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet.” utilizat pentru imunizarea orală a vulpilor este destinat exclusiv imunizării animalelor sălbatice la care nu se aplică nici un tratament imunologic. Din acest motiv, nu s-a efectuat studiul interacțiunilor.

D. Studiul de teren

Vaccinul antirabic „LYSVULPEN por. ad us. vet.”, destinat imunizării orale a vulpilor a fost folosit prima dată în Cehia în 1992. De atunci și până în prezent, s-au amplasat în total 17.744.000 momeli vaccinale în întreaga Cehie. În aceeași perioadă, s-au exportat 5.227.970 momeli vaccinale. În cei zece ani de utilizare a acestui vaccin, au fost produse și livrate în total 23.021.970 momeli de imunizare. În perioada de administrare a vaccinului „LYSVULPEN por. ad us. vet.”, monitorizată și evaluată, s-a diagnosticat rabia la 2368 animale domestice și sălbatice din Cehia. În toate cazurile, diagnosticarea diferențială a rabiei s-a efectuat prin anticorpii specifici monoclonali pentru a se face diferența dintre virusul rabic nativ și virusul vaccinului SAD Bern. Nu s-a înregistrat în niciuna din situații „rabia vaccinală”, adică rabia cauzată de tulpina vaccinală administrată SAD Bern. S-au realizat analize similare în fiecare țară în care s-a exportat

vaccinul „LYSVULPEN por. ad us. vet.” Institutele de testare din străinătate nu au înregistrat nici un caz de rabie provocată de tulpina SAD Bern administrată. Informațiile detaliate cu privire la numărul de momeli vaccinale administrate în cadrul fiecărei campanii și în fiecare an, informațiile privitoare la numărul de specii afectate de rabie, cât și alte informații sunt prezentate în tabelele și diagramele din partea a IV-a a documentației de înregistrare – Eficiență.

Concluzie:

S-a testat în condițiile de teren inofensivitatea vaccinului „LYSVULPEN por. ad us. vet.” destinat imunizării orale a vulpilor. În perioada de zece ani examinată, în Cehia , s-au amplasat în total 17.744.000 momeli vaccinale. În aceeași perioadă, rabia a fost confirmată la 2368 animale domestice și sălbatice. Nu s-a înregistrat nici un caz de rabie cauzată de tulpina vaccinală SAD Bern. Institutele de testare din țările în care a fost exportat vaccinul au obținut rezultate similare. Rezultatele obținute confirmă și completează informațiile privind inofensivitatea tulpinii rabice vaccinale SAD Bern și caracterul adecvat al acesteia în scopul imunizării orale a animalelor sălbatice împotriva rabiei.

E. Ecotoxicitate

Vaccinul antirabic, „LYSVULPEN por. ad us. vet.”, destinat imunizării orale a vulpilor conține virusul vaccinal viu atenuat cu tulpina SAD Bern. Tulpina este ambalată în blistere de aluminiu/plastic, introduse în momeala care atrage animalele țintă. Momelile vaccinale sunt împachetate câte 20 în ambalaje de hârtie pentru a fi amplasate manual sau în pungi a câte 350 bucăți fiecare pentru distribuirea din avion. Din punctul de vedere al ecotoxicității, blisterele de aluminiu/plastic poluează doar într-o anumită măsură. Anumite animale țintă lasă blisterele mestecate în locul în care le-au consumat, acestea rămânând pe teren. Blisterele sunt, de regulă, mărunțite bine, putând astfel fi consumate de rozătoare mici de genul șoarecilor. De aceea, blisterele vaccinale folosite sunt greu de găsit și se pot descoperi rar în urma campaniilor de vaccinare.

MODIFICAREA PĂRȚII A III-A – STUDIUL DE SIGURANȚĂ

A. INTRODUCERE	3
B. CERINȚE GENERALE	3
C. TESTE DE LABORATOR	3
1. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată	
1A. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - mistreț (<i>Sus scrofa</i>)	4
1B. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - pescăruș râzător (<i>Chroicocephalus ridibundus</i>)	11
1C. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - jderul de piatră (<i>Martes foina</i>)	18
1D. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - bursucul (<i>Meles meles</i>)	25
1E. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - șoarecele alb de laborator	32

A. INTRODUCERE

Această parte recapitulează rezultatele testului de siguranță a vaccinului LYSVULPEN por. ad us. vet. Conținând tulpina vaccinală a virusului rabic atenuat SAD Bern: MSV Bio 10 după administrarea acestui preparat imunobiologic la mistreț (*Sus scrofa*), bursuc (*Meles meles*), jderul de piatră (*Martes foina*) și pescărușul râzător (*Chroicocephalus ridibundus*).

B. CERINȚE GENERALE

1. Testele de siguranță s-au efectuat la speciile care nu reprezintă ținta preparatului; la mistreț (*Sus scrofa*), bursuc (*Meles meles*), jderul de piatră (*Martes foina*) și pescărușul râzător (*Chroicocephalus ridibundus*). De asemenea, studiul de siguranță s-a efectuat și pe șoarecii albi de laborator.
2. Doza recomandată a fost administrată în scopul verificării eficienței testului. Testul de inocuitate a fost efectuat în conformitate cu Farmacopeea europeană și cu recomandările OMS.
3. În scopul verificării eficienței testului, au fost utilizate loturile de LYSVULPEN por. ad us. vet. produse în conformitate cu dosarul de înregistrare.

C. TESTE DE LABORATOR

Testele de laborator au fost efectuate în conformitate cu Farmacopeea europeană 01/2008; 0746 VACCIN ANTIRABIC (VIU, ORAL) PENTRU VULPI (*Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem*) și cu recomandările OMS.

1. 1. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată

1A. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată

- mistreț (*Sus scrofa*)

Rezumat:

Din cauza numărului lor mare, mistreții, tipic omnivori, intră în contact cu momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. cu ocazia campaniilor sezoniere și le consumă.

În conformitate cu recomandările OMS, vaccinurile orale pentru imunizarea antirabică a animalelor sălbatice trebuie verificate la toate speciile care nu reprezintă ținta acestora și care ar putea consuma vaccinurile în libertate.

Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat după administrarea unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată în cazul a 10 mistreți (*Sus scrofa*). În 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet., animalele din experiment nu au prezentat semne de rabie. După încheierea perioadei de observație, toate animalele din experiment au fost sacrificate, însă virusul rabic nu a fost descoperit prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampusului. Rabia nu s-a demonstrat la nici un animal din experiment. Determinarea anticorpilor antorabici a fost pozitivă la 1,2,3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Dezbateri:

Mistrețul (*Sus scrofa*) poate fi una din speciile care nu reprezintă ținta vaccinului, ce consumă momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. Mistreții sunt, în general, susceptibili moderat la rabie. S-a demonstrat, de asemenea, prin formarea anticorpilor în decurs de 6 luni de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. De asemenea, rabia nu s-a demonstrat pe parcursul perioadei de observație de 180 de zile, iar examinarea ulterioară a creierului în laborator pentru a verifica existența antigenului virusului rabic nu a demonstrat existența rabiei. Perioada de observație de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea

simptomelor rabiei la toate speciile de animale și păsări. De asemenea, s-a folosit un examen prin imunofluorescență indirectă foarte sensibil și specific în vederea diagnosticării rabiei în laborator.

Concluzie:

Siguranța Lysvulpen por. ad us. vet. a fost demonstrată în urma administrării orale a unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată la mistreți (Sus scrofa). Această concluzie este susținută de rezultatele observațiilor clinice asupra animalelor participante la experiment timp de 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a creierului animalelor din experiment pentru demonstrarea prezenței virusului rabic.

Lista și caracteristicile animalelor cuprinse în testul de siguranță

Nr. crt. mistreț	Nr. de identificare mistreț	Caracteristicile animalului			Notă
		Vârsta	Sexul	Starea de sănătate	
1	PD1	3 luni	F	Bună	
2	PD2	4 luni	M	Bună	
3	PD3	5 luni	F	Bună	
4	PD4	3 luni	F	Bună	
5	PD5	6 luni	M	Bună	
6	PD6	4 luni	M	Bună	
7	PD7	7 luni	F	Bună	
8	PD8	3 luni	M	Bună	
9	PD9	1 an	M	Bună	f. sălbatic
10	PD10	1 an	F	Bună	

PROTOCOL DE TESTARE

a) Descrierea metodelor utilizate

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

Observarea reacțiilor adverse și înregistrarea acestora, simptomele clinice asociate rabiei – modificarea comportamentului, modificarea vocii, pareza musculară, paralizia musculară, acumularea și excreția de salivă, paralizia grupurilor musculare ce duc la decesul animalului.

a2) Diagnosticarea rabiei „post mortem”

Imunofluorescență directă (Dean și Abelseths, 1973)

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

Testul FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet și Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentarului și echipamentelor utilizate:

- seringă de 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, portobiect
- instrumentar de disecție
- frigider de 2-8 °C, congelator de -18 °C, echipament de congelare de -80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- plăcuțe de plastic pentru culturile tisulare
- pipete pentru culturile tisulare

c) Descrierea materialelor utilizate

- jurnal pentru înregistrarea stării clinice zilnice a animalelor
- material de testare MSV Bio 10+1 cu de zece ori titrul maxim de vaccin utilizat
- conjugat antirabic
- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și FAVN

d) Utilizarea animalelor la teste

d1) Specia

- Mistreț

d2) Categoria animalelor

- De la 3 luni la 1 an

d3) Originea animalelor

- Animale din Cehia

d4) Identificarea animalelor

- Crotalie

d5) Număr animale

- 10 buc.

d6) Mediul de viață și locația animalelor

- Animalele din experiment au fost ținute în cuști câte 5

d7) hrănirea animalelor

- Animalele au fost hrănite de 3 ori pe zi, dimineața, la amiază și seara. Dieta consta din amestecuri speciale pentru porci domestici din aceeași categorie.

d8) Denumirea proprietarului animalelor

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

d9) Denumirea echipamentului de testare

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, metoda de administrare, frecvența de administrare, monitorizarea temperaturii și observarea reacțiilor clinice adverse:

Doza de administrare: - 2,0 ml de virus rabic de test

Metoda de administrare: oral, artificial, cu ajutorul unei seringi de plastic cu adaptor de cauciuc

Frecvența de administrare: virusul de testare a fost administrat o dată prin metodă artificială

Observații privind reacțiile adverse: - animalele din cadrul experimentului au fost monitorizate zilnic și toate reacțiile neobișnuite sau adverse ale animalelor au fost înregistrate, acordând atenție prezenței rabiei

Diagnosticarea rabiei „post mortem” - rabia a fost diagnosticată prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. (Dean și Abelseths, 1973)

Determinarea anticorpilor antirabici – anticorpilor antirabici au fost determinați din serul animalelor testate la intervale exacte. Anticorpilor antirabici au fost determinați prin testul FAVN (Cliquet și Barrat, 1996).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Studii: 1969 – 1973: Liceul Tehnico-agricol – specializarea veterinară, Kromeriz

1973-1979 Facultatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, începerea activității

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul veterinar al Poliției de frontieră

1980-1987: Controlor tehnic independent la Departamentul de control calitate și management

1985-1990: Studii pentru teza în domeniul zoigienei și epidemiologiei

1987-1995: Șeful departamentului de control calitate și management

1998-2003: Director de producție și dezvoltare a produselor biologice veterinare

2003-2007: Director de inovare și dezvoltare a produselor biologice

Din 01.01.2007: Director adjunct companie, manager de proiect la Bioveta a.s.

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de fungologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autorul și coautorul a 131 publicații științifice.

Certificate de autor:

Este autorul și coautorul a 25 brevete.

Rapoarte finale de recenzie:

Este autorul și coautorul a 23 rapoarte finale pentru preparate puse în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virusologie

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Nr. crt. mistreț	Administrare orală Lysvulpen	Clinic (180 zile)	Prelevare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0-inițial	1 lună	3 luni	6 luni	Cortex	Cerebel	Medulla oblongata	Hipocamp
1	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,50	1,65	1,21	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,80	2,65	2,28	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0,90	1,10	0,91	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,15	1,05	0,84	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,30	2,71	2,19	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,60	2,37	1,67	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,12	1,31	0,93	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0,85	1,26	0,84	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,30	1,92	1,28	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,60	1,89	1,17	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Media		Neg.	0	1,912	1,791	1,332	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

Testarea vaccinului LYSVULPEN la mistreți (Sus scrofa)

1B. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată

- pescăruș râzător (*Chroicocephalus ridibundus*)

Rezumat:

Din cauza numărului lor mare, pescărușii râzători, tipic omnivori, intră în contact cu momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. cu ocazia campaniilor sezoniere și le consumă.

În conformitate cu recomandările OMS, vaccinurile orale pentru imunizarea antirabică a animalelor sălbatice trebuie verificate la toate speciile care nu reprezintă ținta acestora și care ar putea consuma vaccinurile în libertate.

Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat după administrarea unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată în cazul a 10 pescăruși râzători (*Chroicocephalus ridibundus*). În 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet., păsările din experiment nu au prezentat semne de rabie. După încheierea perioadei de observație, toate păsările din experiment au fost sacrificate, însă virusul rabic nu a fost descoperit prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. Rabia nu s-a demonstrat la nici o pasăre din experiment. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă la 1,2,3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Dezbatere:

Pescărușul râzător (*Chroicocephalus ridibundus*) poate fi una din speciile care nu reprezintă ținta vaccinului, ce consumă momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. Păsările nu sunt, în general, susceptibile la rabie. S-a demonstrat, de asemenea, prin neformarea anticorpilor în decurs de 6 luni de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. (la toți cei 10 pescăruși râzători). De asemenea, rabia nu s-a demonstrat pe parcursul perioadei de observație de 180 de zile, iar examinarea ulterioară a creierului în laborator pentru a verifica existența antigenului virusului rabic nu a demonstrat existența rabiei. Perioada de observație de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor rabiei la toate speciile de animale și păsări. De asemenea, s-a folosit un examen prin imunofluorescență indirectă foarte sensibil și specific în vederea diagnosticării rabiei în laborator.

Concluzie:

Siguranța Lysvulpen por. ad us. vet. a fost demonstrată în urma administrării orale a unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată la pescărușii râzători (*Chroicocephalus ridibundus*). Această concluzie este susținută de rezultatele observațiilor clinice asupra păsărilor participante la experiment timp de 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a creierului animalelor din experiment pentru demonstrarea prezenței virusului rabic.

Lista și caracteristicile animalelor cuprinse în testul de siguranță

Nr. crt. pasăre	Nr. de identificare pasăre	Caracteristicile animalului			Notă
		Vârsta	Sexul	Starea de sănătate	
1	RCH1	Tânăr (până la 1 an)	Necunoscut	Bună	
2	RCH2	Bătrân (peste 1 an)	Necunoscut	Bună	
3	RCH3	Bătrân (peste 1 an)	Necunoscut	Bună	
4	RCH4	Tânăr (până la 1 an)	Necunoscut	Bună	
5	RCH5	Tânăr (până la 1 an)	Necunoscut	Bună	
6	RCH6	Bătrân (peste 1 an)	Necunoscut	Bună	
7	RCH7	Tânăr (până la 1 an)	Necunoscut	Bună	Mai puțin penaj
8	RCH8	Bătrân (peste 1 an)	Necunoscut	Bună	
9	RCH9	Bătrân (peste 1 an)	Necunoscut	Bună	

10	RCH10	Tânăr (până la 1 an)	Necunoscut	Bună	
----	-------	----------------------	------------	------	--

PROTOCOL DE TESTARE

a) Descrierea metodelor utilizate

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

Observarea reacțiilor adverse și înregistrarea acestora, simptomele clinice asociate rabiei – modificarea comportamentului, modificarea vocii, pareza musculară, paralizia musculară, acumularea și excreția de salivă, paralizia grupurilor musculare ce duc la decesul animalului.

a2) Diagnosticarea rabiei „post mortem”

Imunofluorescență directă (Dean și Abelseths, 1973)

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

Testul FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet și Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentarului și echipamentelor utilizate:

- seringă de 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, portobiect
- instrumentar de disecție
- frigider de 2-8 °C, congelator de -18 °C, echipament de congelare de -80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- plăcuțe de plastic pentru culturile tisulare
- pipete pentru culturile tisulare

c) Descrierea materialelor utilizate

- jurnal pentru înregistrarea stării clinice zilnice a animalelor
- material de testare MSV Bio 10+1 cu de zece ori titrul maxim de vaccin utilizat
- conjugat antirabic
- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și FAVN

d) Utilizarea animalelor la teste

d1) Specia

- Pescăruș rătător (*Chirococephalus ridibundus*)

d2) Categoria animalelor

- Păsări tinere (până la 1 an) și păsări bătrâne (peste 1 an)

d3) Originea animalelor

- Animale capturate în Cehia

d4) Identificarea animalelor

- Păsările au fost ținute în colivii separate pe durata perioadei de verificare

d5) Număr animale

- 10 buc.

d6) Mediul de viață și locația animalelor

- Animalele din experiment au fost ținute în colivii separate. Dimensiunea coliviilor a fost de 1x3x2 m. În colivii erau două stângii pentru ca păsările să se poată așeza și mișca.

d7) Hrănirea animalelor

- Păsările au fost hrănite de 3 ori pe zi, dimineața, la amiază și seara. Dieta consta din bucățele mici de pește, cartofi și fructe. Pe durata întregii perioade de verificare, animalele au avut apă la discreție.

d8) Denumirea proprietarului animalelor

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

d9) Denumirea echipamentului de testare

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, metoda de administrare, frecvența de administrare, monitorizarea temperaturii și observarea reacțiilor clinice adverse:

Doza de administrare: - 2,0 ml de virus rabic de test

Metoda de administrare: oral, artificial, cu ajutorul unei seringi de plastic cu adaptor de cauciuc

Frecvența de administrare: virusul de testare a fost administrat o dată prin metodă artificială

Observații privind reacțiile adverse: - păsările din cadrul experimentului au fost monitorizate zilnic și toate reacțiile neobișnuite sau adverse ale păsărilor au fost înregistrate, acordând atenție prezenței rabiei

Diagnosticarea rabiei „post mortem” - rabia a fost diagnosticată prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. (Dean și Abelseths, 1973)

Determinarea anticorpilor antirabici – anticorpilor antirabici au fost determinați din serul păsărilor testate la intervale exacte. Anticorpilor antirabici au fost determinați prin testul FAVN (Cliquet și Barrat, 1996).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Studii: 1969 – 1973: Liceul Tehnico-agricol – specializarea veterinară, Kromeriz

1973-1979 Facultatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, începerea activității

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul veterinar al Poliției de frontieră

1980-1987: Controlor tehnic independent la Departamentul de control calitate și management

1985-1990: Studii pentru teza în domeniul zoigienei și epidemiologiei

1987-1995: Șeful departamentului de control calitate și management

1998-2003: Director de producție și dezvoltare a produselor biologice veterinare

2003-2007: Director de inovare și dezvoltare a produselor biologice

Din 01.01.2007: Director adjunct companie, manager de proiect la Bioveta a.s.

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de fungologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autorul și coautorul a 131 publicații științifice.

Certificate de autor:

Este autorul și coautorul a 25 brevete.

Rapoarte finale de recenzie:

Este autorul și coautorul a 23 rapoarte finale pentru preparate puse în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virusologie

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Nr. crt. pescăruș răsător	Administrare orală Lysvulpen	Clinic (180 zile)	Prelevare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0-inițial	1 lună	3 luni	6 luni	Cortex	Cerebel	Medulla oblongata	Hipocamp
1	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	$2,0 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Media		Neg.	0		0	0	0	Neg.	Neg.	Neg.

Testarea vaccinului LYSVULPEN la pescărușii răsători (*Chroicocephalus ridibundus*).

1C. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată - jderul de piatră (Martes foina)

Rezumat:

Din cauza numărului lor mare, jderii de piatră, tipic omnivori, intră în contact cu momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. cu ocazia campaniilor sezoniere și le consumă.

În conformitate cu recomandările OMS, vaccinurile orale pentru imunizarea antirabică a animalelor sălbatice trebuie verificate la toate speciile care nu reprezintă ținta acestora și care ar putea consuma vaccinurile în libertate.

Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat după administrarea unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată în cazul a 10 jderi de piatră (Martes foina). În 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet., animalele din experiment nu au prezentat semne de rabie. După încheierea perioadei de observație, toate animalele din experiment au fost sacrificate, însă virusul rabic nu a fost descoperit prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. Rabia nu s-a demonstrat la nici un animal din experiment. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă la 1,2,3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Dezbatere:

Jderul de piatră (Martes foina) poate fi una din speciile care nu reprezintă ținta vaccinului, ce consumă momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. Sunt, în general, moderat susceptibile la rabie. S-a demonstrat, de asemenea, prin formarea anticorpilor în decurs de 6 luni de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. De asemenea, rabia nu s-a demonstrat pe parcursul perioadei de observație de 180 de zile, iar examinarea ulterioară a creierului în laborator pentru a verifica existența antigenului virusului rabic nu a demonstrat existența rabiei. Perioada de observație de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor rabiei la toate speciile de animale și păsări. De asemenea, s-a folosit un examen prin imunofluorescență indirectă foarte sensibil și specific în vederea diagnosticării rabiei în laborator.

Concluzie:

Siguranța Lysvulpen por. ad us. vet. a fost demonstrată în urma administrării orale a unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată la jderii de piatră (Martes foina). Această concluzie este susținută de rezultatele observațiilor clinice asupra animalelor participante la experiment timp de 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a creierului animalelor din experiment pentru demonstrarea prezenței virusului rabic.

Lista și caracteristicile animalelor cuprinse în testul de siguranță

Nr. crt. jder de piatră	Nr. de identificare jder de piatră	Caracteristicile animalului			Notă
		Vârsta	Sexul	Starea de sănătate	
1	KS1	6 luni	M	Bună	
2	KS2	6 luni	F	Bună	
3	KS3	6 luni	F	Bună	
4	KS4	6 luni	F	Bună	
5	KS5	6 luni	M	Bună	
6	KS6	6 luni	M	Bună	
7	KS7	18 luni	M	Bună	agresiv
8	KS8	18 luni	F	Bună	
9	KS9	18 luni	M	Bună	
10	KS10	18 luni	M	Bună	

PROTOCOL DE TESTARE

a) Descrierea metodelor utilizate

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

Observarea reacțiilor adverse și înregistrarea acestora, simptomele clinice asociate rabiei – modificarea comportamentului, modificarea vocii, pareza musculară, paralizia musculară, acumularea și excreția de salivă, paralizia grupurilor musculare ce duc la decesul animalului.

a2) Diagnosticarea rabiei „post mortem”

Imunofluorescență directă (Dean și Abelseths, 1973)

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

Testul FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet și Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentarului și echipamentelor utilizate:

- seringă de 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, portobiect
- instrumentar de disecție
- frigider de 2-8 °C, congelator de -18 °C, echipament de congelare de -80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- plăcuțe de plastic pentru culturile tisulare
- pipete pentru culturile tisulare

c) Descrierea materialelor utilizate

- jurnal pentru înregistrarea stării clinice zilnice a animalelor
- material de testare MSV Bio 10+1 cu de zece ori titrul maxim de vaccin utilizat
- conjugat antirabic
- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și FAVN

d) Utilizarea animalelor la teste

d1) Specia

- Jder de piatră (Martes foina)

d2) Categoria animalelor

- De la 6 la 18 luni

d3) Originea animalelor

- Animale din Cehia

d4) Identificarea animalelor

- Tatuaj ureche

d5) Număr animale

- 10 buc.

d6) Mediul de viață și locația animalelor

- Animalele din experiment au fost ținute în cuști separate.

d7) Hrănirea animalelor

- Păsările au fost hrănite de 3 ori pe zi, dimineața, la amiază și seara. Dieta consta din carne fiartă și fructe.

d8) Denumirea proprietarului animalelor

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

d9) Denumirea echipamentului de testare

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, metoda de administrare, frecvența de administrare, monitorizarea temperaturii și observarea reacțiilor clinice adverse:

Doza de administrare: - 2,0 ml de virus rabic de test

Metoda de administrare: oral, artificial, cu ajutorul unei seringi de plastic cu adaptor de cauciuc

Frecvența de administrare: virusul de testare a fost administrat o dată prin metodă artificială

Observații privind reacțiile adverse: - animalele din cadrul experimentului au fost monitorizate zilnic și toate reacțiile neobișnuite sau adverse ale animalelor au fost înregistrate, acordând atenție prezenței rabiei

Diagnosticarea rabiei „post mortem” - rabia a fost diagnosticată prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. (Dean și Abelseths, 1973)

Determinarea anticorpilor antirabici – anticorpilor antirabici au fost determinați din serul animalelor testate la intervale exacte. Anticorpilor antirabici au fost determinați prin testul FAVN (Cliquet și Barrat, 1996).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Studii: 1969 – 1973: Liceul Tehnico-agricol – specializarea veterinară, Kromeriz

1973-1979 Facultatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, începerea activității

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul veterinar al Poliției de frontieră

1980-1987: Controlor tehnic independent la Departamentul de control calitate și management

1985-1990: Studii pentru teza în domeniul zoigienei și epidemiologiei

1987-1995: Șeful departamentului de control calitate și management

1998-2003: Director de producție și dezvoltare a produselor biologice veterinare

2003-2007: Director de inovare și dezvoltare a produselor biologice

Din 01.01.2007: Director adjunct companie, manager de proiect la Bioveta a.s.

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de fungologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autorul și coautorul a 131 publicații științifice.

Certificate de autor:

Este autorul și coautorul a 25 brevete.

Rapoarte finale de recenzie:

Este autorul și coautorul a 23 rapoarte finale pentru preparate puse în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virusologie

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Nr. crt. jder de piatră	Administrare orală Lysvulpen TCID ₅₀ / ml	Clinic (180 zile)	Prelevare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0-inițial	1 lună	3 luni	6 luni	Cortex	Cerebel	Medulla oblongata	Hipocamp
1	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,64	3,19	2,92	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,92	3,81	3,66	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,98	1,78	1,63	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	5,19	4,83	4,44	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	4,27	4,11	3,88	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,83	3,71	3,54	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,79	2,63	2,39	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,91	1,74	1,66	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	5,52	5,38	5,27	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,17	3,00	2,88	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Media		Neg.	0	3,622	3,418	3,227	0	Neg.	Neg.	Neg.

Testarea vaccinului LYSVULPEN la jderii de piatră (Martes foina).

1D. Siguranța în urma administrării unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată- bursuc (Meles meles)

Rezumat:

Din cauza numărului lor mare, bursucii, tipic omnivori, intră în contact cu momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. cu ocazia campaniilor sezoniere și le consumă.

În conformitate cu recomandările OMS, vaccinurile orale pentru imunizarea antirabică a animalelor sălbatice trebuie verificate la toate speciile care nu reprezintă ținta acestora și care ar putea consuma vaccinurile în libertate.

Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat după administrarea unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată în cazul a 10 bursuci (Meles meles). În 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet., animalele din experiment nu au prezentat semne de rabie. După încheierea perioadei de observație, toate animalele din experiment au fost sacrificate, însă virusul rabic nu a fost descoperit prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. Rabia nu s-a demonstrat la nici un animal din experiment. Determinarea anticorpilor antirabici a fost pozitivă la 1,2,3 și 6 luni de la administrarea virusului.

Dezbatere:

Bursucul (Meles meles) poate fi una din speciile care nu reprezintă ținta vaccinului, ce consumă momelile de Lysvulpen por. ad us. vet. Bursucii sunt, în general, moderat susceptibili la rabie. S-a demonstrat, de asemenea, prin formarea anticorpilor în decurs de 6 luni de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. De asemenea, rabia nu s-a demonstrat pe parcursul perioadei de observație de 180 de zile, iar examinarea ulterioară a creierului în laborator pentru a verifica existența antigenului virusului rabic nu a demonstrat existența rabiei. Perioada de observație de 180 de zile este suficientă pentru manifestarea simptomelor rabiei la toate speciile de animale și păsări. De asemenea, s-a folosit un examen prin imunofluorescență indirectă foarte sensibil și specific în vederea diagnosticării rabiei în laborator.

Concluzie:

Siguranța Lysvulpen por. ad us. vet. a fost demonstrată în urma administrării orale a unei cantități de zece ori mai mari decât doza maximă recomandată la bursuci (Meles meles). Această concluzie este susținută de rezultatele observațiilor clinice asupra animalelor participante la experiment timp de 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. și de examinarea ulterioară a creierului animalelor din experiment pentru demonstrarea prezenței virusului rabic.

Lista și caracteristicile animalelor cuprinse în testul de siguranță

Nr. crt. bursuc	Nr. de identificare bursuc	Caracteristicile animalului			Notă
		Vârsta	Sexul	Starea de sănătate	
1	JL1	5 luni	F	Bună	
2	JL2	5 luni	F	Bună	
3	JL3	5 luni	M	Bună	
4	JL4	6 luni	M	Bună	Foarte agresiv
5	JL5	6 luni	M	Bună	
6	JL6	6 luni	F	Bună	
7	JL7	6 luni	M	Bună	
8	JL8	5 luni	F	Bună	
9	JL9	6 luni	M	Bună	
10	JL10	18 luni	F	Bună	

PROTOCOL DE TESTARE

a) Descrierea metodelor utilizate

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

Observarea reacțiilor adverse și înregistrarea acestora, simptomele clinice asociate rabiei – modificarea comportamentului, modificarea vocii, pareza musculară, paralizia musculară, acumularea și excreția de salivă, paralizia grupurilor musculare ce duc la decesul animalului.

a2) Diagnosticarea rabiei „post mortem”

Imunofluorescență directă (Dean și Abelseths, 1973)

a3) Determinarea anticorpilor antirabici

Testul FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet și Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentarului și echipamentelor utilizate:

- seringă de 2 ml cu aplicator
- microscop pentru imunofluorescență, portobiect
- instrumentar de disecție
- frigider de 2-8 °C, congelator de -18 °C, echipament de congelare de -80 °C
- termostat 37 °C cu 5% CO₂
- plăcuțe de plastic pentru culturile tisulare
- pipete pentru culturile tisulare

c) Descrierea materialelor utilizate

- jurnal pentru înregistrarea stării clinice zilnice a animalelor
- material de testare MSV Bio 10+1 cu de zece ori titrul maxim de vaccin utilizat
- conjugat antirabic
- standarde pentru efectuarea testului de imunofluorescență directă și FAVN

d) Utilizarea animalelor la teste

d1) Specia

- Bursuc (Meles meles)

d2) Categoria animalelor

- Exemplare tinere de 5 și 6 luni

d3) Originea animalelor

- Animale capturate în Cehia

d4) Identificarea animalelor

- Tatuaj ureche

d5) Număr animale

- 10 buc.

d6) Mediul de viață și locația animalelor

- Animalele din experiment au fost ținute în cuști separate. Cuștile aveau dimensiunea de 1x3x2 m. În cușcă s-a amplasat un ascunziș pentru animale.

d7) Hrănirea animalelor

- Păsările au fost hrănite de 3 ori pe zi, dimineața, la amiază și seara. Dieta consta din bucățele mici de carne, cartofi și fructe. Pe parcursul perioadei de verificare, animalele au avut apă la discreție.

d8) Denumirea proprietarului animalelor

- - Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

d9) Denumirea echipamentului de testare

- Bioveta a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza administrată, metoda de administrare, frecvența de administrare, monitorizarea temperaturii și observarea reacțiilor clinice adverse:

Doza de administrare: - 2,0 ml de virus rabic de test

Metoda de administrare: oral, artificial, cu ajutorul unei seringi de plastic cu adaptor de cauciuc

Frecvența de administrare: virusul de testare a fost administrat o dată prin metodă artificială

Observații privind reacțiile adverse: - animalele din cadrul experimentului au fost monitorizate zilnic și toate reacțiile neobișnuite sau adverse ale animalelor au fost înregistrate, acordând atenție prezenței rabiei

Diagnosticarea rabiei „post mortem” - rabia a fost diagnosticată prin imunofluorescență directă la nivelul cortexului cerebral, a cerebelului, al medullei oblongata și al hipocampului. (Dean și Abelseths, 1973)

Determinarea anticorpilor antirabici – anticorpilor antirabici au fost determinați din serul animalelor testate la intervale exacte. Anticorpilor antirabici au fost determinați prin testul FAVN (Cliquet și Barrat, 1996).

Numele, adresa, funcția și calificarea examinatorului:

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Studii: 1969 – 1973: Liceul Tehnico-agricol – specializarea veterinară, Kromeriz

1973-1979 Facultatea de Medicină Veterinară din Brno

1 aprilie 1979: Bioveta Ivanovice na Hané, începerea activității

1979-1980: Serviciul militar la Serviciul veterinar al Poliției de frontieră

1980-1987: Controlor tehnic independent la Departamentul de control calitate și management

1985-1990: Studii pentru teza în domeniul zooigienei și epidemiologiei

1987-1995: Șeful departamentului de control calitate și management

1998-2003: Director de producție și dezvoltare a produselor biologice veterinare

2003-2007: Director de inovare și dezvoltare a produselor biologice

Din 01.01.2007: Director adjunct companie, manager de proiect la Bioveta a.s.

Membru în organizații profesionale:

Asociația cehoslovacă de microbiologie – din 1980

Asociația științifică cehoslovacă de fungologie – din 1980

Asociația cehoslovacă de imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Este autorul și coautorul a 131 publicații științifice.

Certificate de autor:

Este autorul și coautorul a 25 brevete.

Rapoarte finale de recenzie:

Este autorul și coautorul a 23 rapoarte finale pentru preparate puse în folosință.

Specializare profesională: imunologie, virusologie

MVDr. Vladimír Vrzał, CSc.

Nr. crt. bursuc	Administrare orală Lysvulpen	Clinic (180 zile)	Prelevare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0-inițial	1 lună	3 luni	6 luni	Cortex	Cerebel	Medulla oblongata	Hipocamp
1	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,55	2,39	2,19	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,87	1,55	1,37	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,06	2,87	2,44	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	4,19	3,90	3,68	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	1,65	1,36	1,19	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,91	2,88	2,49	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,66	3,49	3,13	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	2,87	2,67	2,46	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,91	3,72	3,51	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	2,0x10 ^{9,0} TCID ₅₀ / ml	Neg.	0	3,12	2,81	2,69	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Media		Neg.	0	2,979	2,764	2,515	0	Neg.	Neg.	Neg.

Testarea vaccinului LYSVULPEN la bursuci (Meles meles).



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

1E. Măsurile de siguranță după administrarea înzecită a dozei maxime recomandate – șoarece alb de laborator

Rezumat:

Vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. a fost testat după administrarea de zece ori a dozei maxime recomandate a virusului testat asupra a 25 de subiecți șoareci de laborator pe cale subcutanată (s.c.) dar și asupra altor 25 de subiecți șoareci de laborator pe cale orală (p.o.). În 180 de zile de la administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. nu au fost înregistrate simptome de turbare/rabie asupra șoarecilor experimentali. După încheierea perioadei de examinare, șoarecii au fost exterminați iar virusul rabic nu a fost demonstrat prin imunofluorescență în cortexul cerebral, cerebel, medulla oblongata sau în colțul Amon. Turbarea nu s-a manifestat în niciunul dintre animalele experimentale. Stabilirea anticorpilor antirabici a avut rezultat pozitiv în 1, 2, 3 și 6 luni după administrarea virusului.

Dezbateri:

Șoarecele alb de laborator este extrem de sensibil la rabie și din acest motiv este folosit pentru diagnosticarea acesteia în cadrul experimentelor biologice. Șoarecele alb de laborator este un model corespunzător pentru testarea patogenității reziduale a virusului rabic, în scopul imunizării orale a vulpilor și a altor animale carnivore împotriva turbării. După administrarea subcutanată, chiar și după cea orală, nu a putut fi demonstrată nicio formă de turbare la animalele experimentale. După administrarea virusului, au fost descoperiți la toate animalele testate anticorpi specifici de neutralizare a virusului. Rabia nu a putut fi demonstrată pe durata perioadei de monitorizare de 180 de zile (după administrarea virusului testat la animalele parte din acest experiment). După finalizarea perioadei de observație, toate animalele au fost exterminate nedescoperindu-se niciun fel de tip de turbare în respectivele părți ale creierului (laboratorul a utilizat imunofluorescența).

Perioada de monitorizare de 180 de zile este în mod general considerată ca suficientă pentru manifestarea simptomelor de rabie la toate speciile de animale. Metoda imunofluorescenței este considerată ca fiind una sensibilă și de încredere pentru diagnosticarea rabiei la toate speciile de animale.

Concluzii:

Siguranța Lysvulpen por. ad us. vet. a fost demonstrată după administrarea orală și subcutanată de zece ori a dozei maxime recomandate asupra șoarecilor albi de laborator. Această concluzie este sprijinită de rezultatele observației clinice a unor șoareci experimentali timp de 180 de zile după administrarea Lysvulpen por. ad us. vet. și după examinarea ulterioară a creierului lor cu rezultate negative în ceea ce privește prezența virusului rabic.



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Lista și caracteristicile animalelor implicate în testarea siguranței

a) Administrare subcutanată

Nr. crt. șoarece	Nr. ID șoarece	Caracteristicile animalelor			Observații
		Vârsta	Sex	Starea sănătății	
1.	MB1	1 lună	♀	bună	
2.	MB2	1 lună	♂	bună	
3.	MB3	1 lună	♀	bună	
4.	MB4	1 lună	♀	bună	
5.	MB5	1 lună	♂	bună	
6.	MB6	1 lună	♂	bună	
7.	MB7	1 lună	♀	bună	
8.	MB8	1 lună	♀	bună	
9.	MB9	1 lună	♀	bună	
10.	MB10	1 lună	♂	bună	
11.	MB11	1 lună	♂	bună	
12.	MB12	1 lună	♀	bună	
13.	MB13	1 lună	♂	bună	
14.	MB14	1 lună	♀	bună	
15.	MB15	1 lună	♂	bună	
16.	MB16	1 lună	♀	bună	
17.	MB17	1 lună	♂	bună	
18.	MB18	1 lună	♀	bună	
19.	MB19	1 lună	♀	bună	
20.	MB20	1 lună	♂	bună	
21.	MB21	1 lună	♂	bună	
22.	MB22	1 lună	♀	bună	
23.	MB23	1 lună	♀	bună	
24.	MB24	1 lună	♀	bună	
25.	MB25	1 lună	♂	bună	



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

b) Administrare orală

Nr. crt. șoarece	Nr. ID șoarece	Caracteristicile animalelor			Observații
		Vârstă	Sex	Starea sănătății	
1.	MB1	1 lună	♂	bună	
2.	MB2	1 lună	♀	bună	
3.	MB3	1 lună	♂	bună	
4.	MB4	1 lună	♀	bună	
5.	MB5	1 lună	♀	bună	
6.	MB6	1 lună	♂	bună	
7.	MB7	1 lună	♀	bună	
8.	MB8	1 lună	♂	bună	
9.	MB9	1 lună	♀	bună	
10.	MB10	1 lună	♀	bună	
11.	MB11	1 lună	♂	bună	
12.	MB12	1 lună	♂	bună	
13.	MB13	1 lună	♀	bună	
14.	MB14	1 lună	♀	bună	
15.	MB15	1 lună	♀	bună	
16.	MB16	1 lună	♂	bună	
17.	MB17	1 lună	♂	bună	
18.	MB18	1 lună	♂	bună	
19.	MB19	1 lună	♀	bună	
20.	MB20	1 lună	♀	bună	
21.	MB21	1 lună	♀	bună	
22.	MB22	1 lună	♂	bună	
23.	MB23	1 lună	♂	bună	
24.	MB24	1 lună	♀	bună	
25.	MB25	1 lună	♂	bună	



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

PROTOCOL DE TESTARE

a) Descrierea metodelor utilizate

a1) Monitorizarea și evaluarea reacțiilor adverse

Observarea reacțiilor adverse și înregistrarea acestora, a simptomelor clinice asociate turbării – comportament schimbat, schimbarea vocii, pareza mușchilor, paralizia mușchilor, acumularea și excreția salivei, paralizia grupelor de mușchi toate ducând la decesul animalului.

a2) Diagnosticarea „postmortem” a rabiei

Imunofluorescență directă (Dean și Abelseths, 1973).

a3) Stabilirea anticorpilor antirabici

Testul FAVN – detectarea anticorpilor antirabici (Cliquet și Barrat, 1996).

b) Descrierea instrumentelor și echipamentelor utilizate

- seringă de 1 ml cu aplicator
- seringă de 0.1 ml – tip Hamilton
- microscop imunofluorescență, lame
- instrumente de disecție
- frigider 2-8° C, congelator -18° C, contor congelare puternică -80° C
- termostat 37° C cu 5% CO₂
- vase de plastic pentru lucrul cu culturi de țesut
- pipete pentru lucrul cu culturi de țesut.

c) Descrierea materialului utilizat:

- jurnal pentru înregistrarea stării clinice zilnice a animalului
- material testat MSV Bio 10+1 de zece ori doza maximă de vaccin utilizat
- conjugat antirabic
- standarde pentru randamentul imunofluorescenței directe și a testului FAVN

d) Utilizarea animalelor pentru testare:

d1) Specii

- șoarece

d2) Categoria animalului



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

- șoarece alb de laborator

d3) Originea animalului

- Anlab, Praga

d4) Identificarea animalului

- animalele experimentale au fost așezate într-o cuvă de reproducere pe toată durata experimentului

d5) Numărul animalelor

- 50 de subiecți

d6) Condiții pentru așezarea și păstrarea animalelor

- animalele experimentale au fost așezate într-o cuvă de reproducere

d7) Hrănirea animalelor

- dietă granulată, apă și libitum

d8) Numele proprietarului animalelor

- Bioveta, a.s. cu sediul în Ivanovice na Hané

e) Doza de administrare, metoda de administrare, graficul de administrare, monitorizarea temperaturii și observarea reacțiilor adverse clinice:

Doza de administrare - 0,2 ml de virus rabic de testare pe cale subcutanată, 0,05 ml de virus rabic de testare pe cale orală

Metoda de administrare - se utilizează o seringă cu un volum de 1 ml și de 0,1

Graficul de administrare - virusul de testare a fost administrat o singură dată prin metoda artificială

Observarea reacțiilor adverse - șoarecii experimentali au fost monitorizați zilnic fiind înregistrate toate reacțiile adverse sau neobișnuite ale animalelor, cu accent pe prezența rabiei

Diagnosticarea „postmortem” a rabiei - rabia a fost diagnosticată din cortexul cerebral, cerebel, medulla oblongata și colțul Amon prin imunofluorescență directă (Dean și Abelseth, 1973).

Stabilirea anticorpilor antirabici - anticorpii antirabici au fost stabiliți din serurile animalelor testate extrase la intervale fixe. Anticorpii antirabici au fost stabiliți prin testul FAVN (Cliquet și Barrat, 1996).



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Numele, adresa, funcția și calificarea cercetătorului:

Medic Veterinar Dr. Vladimír Vrzal, CSc.

Data nașterii: 26 noiembrie 1953

Educație:

- 1969-1973: Școala Secundară Tehnică și de Agricultură – studii veterinare, Kroměříž
- 1973-1979: Universitatea Veterinară, Brno
- 01/04/1979: Bioveta Ivanovice na Hané, orientarea angajaților
- 1979-1980: Serviciul militar în cadrul departamentului veterinar al poliției de frontieră
- 1980-1987: Controlor tehnic independent, Managementul și Controlul Calității
- 1985-1990: Lucrarea de disertație a candidatului asupra disciplinei Igiena și Epidemiologia Animalelor
- 1987-1995: Director al Departamentului Managementul și Controlul Calității
- 1995-1998: Manager Producție la Bioveta, s.r.o.
- 1998-2003: Director Producție și Dezvoltare a Produselor Biologice Veterinare
- 2003-2007: Director Inovație și Dezvoltare a Produselor Biologice
- Începând cu 01/01/2007: Director Adjunct al Companiei, Manager de Proiect, Bioveta, a.s.

Membru în organizații profesionale:

Societatea Cehoslovacă de Microbiologie – din 1980

Societatea Științifică Cehoslovacă de Microbiologie – din 1980

Societatea Cehoslovacă de Imunologie – din 1981

Activitate profesională:

Publicații:

Autor și co-autor a 131 de publicații științifice

Certificate de autor:

Autor și co-autor a 25 de patente/ brevete

Rapoarte finale peer view (comitet de referenți)



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia
tel: +420 517 363 321-4 e-mail: comm@bioveta.cz

Autor și co-autor a 23 de rapoarte finale asupra unor produse introduse în practică

Experiență profesională: imunologie, virusologie

Medic Veterinar Dr. Vladimír Vrzal, CSc.



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia

tel: +420 517 363 321-4

e-mail: comm@bioveta.cz

Verificarea vaccinului Lysvulpen pe șoarecii albi de laborator

a) Administrarea subcutanată a 0,2 ml de virus testat

Nr. șoarece alb de laborator	Administrarea subcutanată a virusului LYSVULPEN	Clinic (180 de zile)	Recoltare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0- <i>inic</i>	1 <i>lună</i>	3 <i>luni</i>	6 <i>luni</i>	<i>cortex</i>	<i>cerebel</i>	<i>medulla oblongata</i>	<i>colț Amon</i>
1.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,87	0,96	0,33	neg.	neg.	neg.	neg.
2.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,65	0,80	0,48	neg.	neg.	neg.	neg.
3.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,85	0,92	0,51	neg.	neg.	neg.	neg.
4.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,73	0,88	0,44	neg.	neg.	neg.	neg.
5.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,75	0,93	0,56	neg.	neg.	neg.	neg.
6.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,68	0,81	0,51	neg.	neg.	neg.	neg.
7.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,75	0,89	0,48	neg.	neg.	neg.	neg.
8.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,65	0,84	0,44	neg.	neg.	neg.	neg.
9.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,93	0,99	0,61	neg.	neg.	neg.	neg.
10.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,58	0,71	0,35	neg.	neg.	neg.	neg.
11.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,82	0,92	0,64	neg.	neg.	neg.	neg.
12.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,71	0,89	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
13.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,87	0,95	0,55	neg.	neg.	neg.	neg.
14.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,96	0,99	0,73	neg.	neg.	neg.	neg.
15.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,84	0,96	0,70	neg.	neg.	neg.	neg.
16.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,98	0,99	0,69	neg.	neg.	neg.	neg.



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia

tel: +420 517 363 321-4

e-mail: comm@bioveta.cz

17.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,80	0,97	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
18.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,77	0,88	0,50	neg.	neg.	neg.	neg.
19.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,57	0,73	0,36	neg.	neg.	neg.	neg.
20.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,69	0,81	0,48	neg.	neg.	neg.	neg.
21.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,59	0,77	0,33	neg.	neg.	neg.	neg.
22.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,73	0,87	0,53	neg.	neg.	neg.	neg.
23.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,81	0,95	0,62	neg.	neg.	neg.	neg.
24.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,74	0,88	0,51	neg.	neg.	neg.	neg.
25.	0,2 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,86	0,92	0,58	neg.	neg.	neg.	neg.
Rezultat		neg.	0	0,77	0,89	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.

Verificarea vaccinului Lysvulpen pe șoarecii albi de laborator

b) Administrarea orală a 0,05 ml de virus testat

Nr. șoarece alb de laborator	Administrarea orală a virusului LYSVULPEN	Clinic (180 de zile)	Recoltare sânge (IU/ml)				Post mortem - IF			
			0- <i>inic</i>	1 <i>lună</i>	3 <i>luni</i>	6 <i>luni</i>	<i>cortex</i>	<i>cerebel</i>	<i>medulla oblongata</i>	<i>colț Amon</i>
1.	0,05 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,35	0,51	0,44	neg.	neg.	neg.	neg.
2.	0,05 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,41	0,58	0,49	neg.	neg.	neg.	neg.
3.	0,05 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,29	0,44	0,38	neg.	neg.	neg.	neg.
4.	0,05 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,44	0,61	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
5.	0,05 x 10 ^{9,0} TCID ₅₀	neg.	0	0,38	0,53	0,49	neg.	neg.	neg.	neg.



BIOVETA a.s. Komenského 212, 683 23, Ivanovice na Hané, Republica Cehia

tel: +420 517 363 321-4

e-mail: comm@bioveta.cz

6.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,52	0,77	0,47	neg.	neg.	neg.	neg.
7.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,68	0,83	0,65	neg.	neg.	neg.	neg.
8.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,44	0,72	0,48	neg.	neg.	neg.	neg.
9.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,39	0,55	0,43	neg.	neg.	neg.	neg.
10.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,62	0,82	0,60	neg.	neg.	neg.	neg.
11.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,59	0,80	0,66	neg.	neg.	neg.	neg.
12.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,51	0,74	0,58	neg.	neg.	neg.	neg.
13.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,66	0,88	0,68	neg.	neg.	neg.	neg.
14.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,49	0,66	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
15.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,50	0,72	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
16.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,66	0,83	0,68	neg.	neg.	neg.	neg.
17.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,48	0,59	0,53	neg.	neg.	neg.	neg.
18.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,37	0,49	0,45	neg.	neg.	neg.	neg.
19.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,53	0,77	0,55	neg.	neg.	neg.	neg.
20.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,59	0,76	0,61	neg.	neg.	neg.	neg.
21.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,44	0,67	0,50	neg.	neg.	neg.	neg.
22.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,38	0,49	0,42	neg.	neg.	neg.	neg.
23.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,57	0,72	0,59	neg.	neg.	neg.	neg.
24.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,51	0,79	0,52	neg.	neg.	neg.	neg.
25.	$0,05 \times 10^{9,0}$ TCID ₅₀	neg.	0	0,59	0,77	0,59	neg.	neg.	neg.	neg.
Rezultat		neg.	0	0,50	0,68	0,53	neg.	neg.	neg.	neg.

Studiu privind siguranța tulpinii virusului rabic SAD Bio-10 asupra șoarecilor imunodeficienți

V. Vrzal

Bioveta a.s., Ivanovice na Hané, Republica Cehia

REZUMAT: Având ca bază recomandarea OMS (Organizației Mondiale a Sănătății), patogenitatea reziduală a tulpinii virusului rabic SAD Bio-10 pentru vaccinare (componentă a vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet.) a fost testată pe șoareci imunodeficienți din clasa Nud (fără păr) (CRL: CD1-FOXN1 NU) și pe cei din clasa SCID (CB17/ICR-PRKDC-SCID). O cantitate de $0,02 \text{ ml} \times 10^{9,0} \text{ TCID}_{50}$ de tulpină de virus a fost administrată la câte 10 șoareci din fiecare clasă pe cale orală și la câte alți 10 șoareci din fiecare clasă pe cale intramusculară. Zece șoareci din fiecare clasă au rămas ca puncte de control fără a li se administra virusul. Animalele au fost monitorizate timp de 28 de zile. Ulterior, animalele care au supraviețuit au fost exterminate și diferite părți ale corpului lor au fost examinate prin imunofluorescență directă (creierul) și prin metoda PCR (restul de mostre prelevate), cercetându-se prezența rabiei. De asemenea, apariția anticorpilor antirabici, anterior și ulterior administrării virusului, a fost cercetată cu ajutorul testului FAVN.

Din 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul pe cale orală, s-a descoperit rabie la 1 șoarece. Similar, din 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară, s-a descoperit rabie la 1 șoarece.

În ceea ce privește clasa SCID (CB17/ICR-PRKDC-SCID), nu s-a descoperit rabie la niciunul din cei 10 șoareci cărora le-a fost administrat virusul pe cale orală, și s-a descoperit rabie la 4 șoareci din 10 cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară.

CUVINTE CHEIE: rabie/turbare, virus de vaccinare, Bio-10, patogenitate reziduală, șoarece imunodeficientar, administrarea orală, administrare intramusculară, mortalitate.

Imunizarea pe cale orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei a devenit parte integrantă din lupta împotriva acestei boli fatale atât în Europa cât și în America de Nord.

Orice vaccin oral pentru imunizarea animalelor sălbatice ar trebui să fie eficient (de exemplu, să producă imunitate protectoare la speciile de animale țintă) și trebuie să fie inofensiv atât pentru speciile de animale țintă cât și pentru cele care nu sunt țintă. Caracterul inofensiv este evaluat la speciile de animale țintă dar și la alte specii de animale (care nu sunt țintă) care pot intra în contact cu vaccinul în urma răspândirii lui în mediul înconjurător. Vaccinul nu trebuie nici să inducă rabia la animale și nici s-o răspândească animalelor sensibile la această boală prin intermediul celor vaccinate.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS)¹, Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor (OMSA)^{2,3} și Farmacopeea Europeană⁴ au identificat condiții și au publicat recomandări legate de cerințele vaccinurilor intenționate a fi utilizate pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice. Din moment ce există posibilitatea ca persoane slab imunizate să intre în contact cu virusul rabic vaccinabil folosit pentru imunizarea orală a animalelor în libertate, OMS⁵ a recomandat realizarea de teste adiționale de siguranță pe animale de laborator imuno deficitar – șoareci.

MATERIALE ȘI METODE

A fost folosită tulpina virusului rabic SAD Bio-10 (derivată din tulpina SAD Bern) în primul lot de producție (MSV + 1). Titrul folosit al tulpinii virusului rabic SAD Bio-10 a fost $10^{9,0}$ TCID₅₀ per ml care este înzecit față de titrul maxim al virusului din vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. folosit în teren. Virusul era identic cu cel utilizat în mod obișnuit pentru prepararea vaccinului oral Lysvulpen por. ad us. vet. în vederea imunizării animalelor sălbatice împotriva rabiei.

ANIMALE DE STUDIU

Grupul animalelor de studiu a fost alcătuit din 30 de șoareci din clasa Nud (fără păr) (CRL: CD1-FOXN1 NU) și din 30 de șoareci din clasa SCDI (CB17/ICR-PRKDC-SCID), în vârstă de 3 luni, nevaccinați împotriva rabiei, absolut sănătoși, deparazitați, cu origine slab imunizată (Laboratoarele Charles River, Modele și Servicii de Cercetare GmbH, Germania). Animalelor li s-a permis să se adapteze timp de 7 zile într-un dispozitiv izolat înainte de administrarea virusului. După administrarea vaccinării virusului, animalele au fost ținute într-o cuvă de reproducere (10 șoareci într-o cuvă) pe întreaga perioadă de probă de 28 de zile. Dispozitivul izolat a fost echipat cu o linie de alimentare de aer steril. Hrana și apa au fost, de asemenea, sterile.

ADMINISTRAREA VIRUSULUI, RECOLTAREA DE SÂNGE ȘI PRELEVAREA PROBELOR

Tulpina virusului rabic SAD Bio-10 a fost administrată șoarecilor în cantitate de $0,02 \text{ ml} \times 10^{9,0}$ TCID₅₀ (de zece ori doza maximă folosită în teren pentru virusul de vaccinare). Au fost folosite două căi de administrare: orală (administrare prin cavitatea bucală) și intramusculară (administrare în mușchiul membrului pelvin). Nu au fost administrate medicamente sedative șoarecilor înainte de administrarea virusului. Pentru administrarea orală, șoarecele a fost imobilizat și după ce i s-a deschis gura, virusul test a fost administrat foarte încet cu ajutorul unei seringi (volum total de 0,1 ml) fără ac. Șoarecele a fost monitorizat în timp ce înghițea virusul pe durata administrării lente a acestuia. Pentru administrarea intramusculară, un ac foarte fin a fost atașat seringii și virusul a fost administrat intramuscular în mușchiul membrului pelvin al animalului. Șoarecii au fost monitorizați zilnic cu accent pe apariția simptomelor de rabie. În perioada de 28 de zile de monitorizare, s-a recoltat sânge de la toate animalele care au supraviețuit pentru a descoperi anticorpi antirabici în el, apoi animalele au fost exterminate. Mostre din creier, glandele salivare, splină, plămâni, esofag și mucoasă bucală au fost prelevate în timpul autopsiei pentru depistarea rabiei prin metoda imunofluorescenței și prin metoda PCR.

EXAMINAREA PROBELOR BIOLOGICE

Mostrele de ser din sângele recoltat după testare au fost analizate pentru depistarea prezenței de anticorpi antirabici cu ajutorul testului FAVN.

Mostrele din creier, glandele salivare, splină, plămâni, esofag și mucoasă bucală au fost examinate prin metoda imunofluorescenței⁶ sau prin metoda PCR pentru depistarea prezenței antigenului virusului.

REZULTATE

Animalele de studiu au fost monitorizate zilnic și a fost înregistrată starea lor de sănătate. Imediat după decesul lor, șoarecii au fost colectați și depozitați la rece la temperaturi de 2° C - 8° C, supuși autopsiei prin care li s-au prelevat câteva organe care au fost examinate în vederea depistării rabiei prin imunofluorescență directă (creierul) și prin metoda PCR (alte mostre).

Din cei 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul pe cale orală, 1 șoarece a fost infectat cu rabie și a murit din această cauză în 20 de zile. Similar, din cei 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară, 1 șoarece a fost infectat cu rabie și a murit din această cauză în 19 zile.

În ceea ce privește clasa SCID (CB17/ICR-PRKDC-SCID), nu s-a descoperit rabie la niciunul din cei 10 șoareci cărora le-a fost administrat virusul pe cale orală, și s-a descoperit rabie la 4 șoareci din 10 cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară; șoarecii afectați au murit în 15, 18, 20 și respectiv 21 de zile.

Rabia a fost descoperită prin examinarea prin imunofluorescență a creierului șoarecilor care au murit din cauza acestei boli. Mostre din organele care au rămas, de exemplu glandele salivare, splină, plămâni, esofag și mucoasă bucală au rezultat negativ în urma examinării PCR, cu excepția unei singure mostre de mucoasă bucală a unui singur șoarece din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) în urma administrării orale a virusului.

La momentul inițial, testul FAVN nu a descoperit anticorpi antirabici la șoareci. Nu au fost descoperiți anticorpi la șoarecii din clasa CRL: CD1-FOXN1 NU în urma administrării orale a virusului Bio-10. Anticorpi antirabici specifici la nivelurile 0,5 până la 0,87 IU/ml au fost descoperiți la toți șoarecii care au supraviețuit și cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară. În cazul clasei de șoareci CB17/ICR-PRKDC-SCID, nu au fost detectați anticorpi antirabici specifici nici după administrarea orală nici după cea intramusculară a virusului Bio-10.

DEZBATERI

Multe țări din Europa s-au angajat în acest proiect, lansat în 1978, de vaccinare orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei utilizând vaccinuri ce conțin tulpini vii reduse de rabie, derivate din tulpinile SAD. OMS a lansat o serie de recomandări legate de evaluarea caracterului inofensiv al vaccinurilor orale⁷⁻¹⁴. Cu toate acestea, utilizarea vaccinurilor este asociată cu unele riscuri ale patogenității reziduale reprezentate de derivatele tulpinii SAD.

Patogenitatea reziduală la șoareci și alte rozătoare a fost subiectul multor lucrări^{15,16,17}. A fost descrisă turbarea la 1 pui de vulpe, 1 pisică și 1 jder de piatră în urma administrării orale a tulpinii SAD Bern. Rabia a fost identificată la 7 sconși din 11 animale cărora le-a fost administrat virusul vaccin SAD B-19 per os¹⁸.

La babuini, rabia a fost identificată la 2 din 4 animale cărora le-a fost administrată tulpina SAD Bern pe cale orală¹⁹.

Un caz de rabie în Austria identificat la o vulpe după administrarea de tulpină de vaccin a fost confirmat prin documente²⁰. Patru vulpi cu rabie indusă de virusul SAD B19 au fost identificate în Germania în timpul campaniilor de vaccinare orală împotriva rabiei din 2001, 2002, 2004 și 2005²¹.

Din păcate, acest risc este indicat și de noile vaccinuri antirabice. Tulpina mutagenă de rabie SAG 1 reține patogenitate reziduală în urma administrării intracerebrale la șoareci sugari. Unei femei tinere, mușcată de un câine când încerca să îi îndepărteze din gură mâncarea momeală, i-au apărut leziuni ale pielii de tipul variolei, din cauza recombinantului de tulpină de rabie VRG.²²

Cazul de patogenitate reziduală al tulpinii SAD Bern, în urma administrării orale a 2 ml la titru de $10^{7,5}$ TCID₅₀ fiecăruia dintre cei 4 babuini și care a indus rabie fatală la 2 dintre aceștia (perioadă de incubare între 11 și 13 zile)¹⁹, a fost citat în mod frecvent în legătură cu apariția acesteia la derivatele tulpinii SAD. Organizația Mondială a Sănătății⁵ recomandă testarea patogenității tulpinilor de virus rabic utilizate în prepararea vaccinurilor antirabice pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice dar și a animalelor cu imunitate slabă. De fapt, contactul unei persoane cu imunitate slabă cu vaccinuri de virus rabic folosite pentru imunizarea animalelor sălbatice împotriva acestei boli nu este complet imposibil. Urmând recomandările relevante ale OMS⁵, am decis să testăm pe șoareci cu imunitate scăzută caracterul inofensiv al tulpinii de virus rabic Bio-10 care este conținută de vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet.

A fost descrisă testarea realizată pe șoareci cu imunitate slabă din clasele Nud (CD1-nu/nu) și SCID¹⁷. Tulpina SAD B19 a fost administrată șoarecilor pe cale orală și intramusculară în cantitate de 0,02 ml de $2,5 \times 10^{7,0}$ FFU. În urma administrării orale, 2 dintre cei 6 șoareci din clasa Nud au murit de rabie (Ziua 15) în timp ce niciunul dintre cele 6 exemplare din clasa SCID nu a contactat boala. În urma administrării intramusculare, toți cei 6 șoareci din clasa Nud și 5 șoareci din 6 din clasa SCID au murit. Toate animalele experimentale cărora nu le-a fost administrat virusul au rămas sănătoase.

Artois¹⁶ a analizat patogenitatea potențială a tulpinilor de rabie în rozătoarele sălbatice, tulpini destinate imunizării orale antirabice a animalelor sălbatice. El a folosit virusuri vaccin cu tulpini V-RG, SAG-1, SAD Bern și SAD B19. Patogenitatea potențială a fost examinată după administrarea fiecărei tulpini de vaccinare în cavitatea bucală într-o doză de 0,03 ml cu ajutorul unei micro-pipete. Când s-a folosit tulpina SAD Bern, rabia a fost observată la 1 dintre cele 8 exemplare din specia *Apodemus flavicollis* (sero conversia împotriva rabiei n-a fost demonstrată la niciunul dintre cei 7 șoareci care au supraviețuit); niciunul dintre cei 6 șoareci din specia *Clethrionomys glareolus* nu a contactat rabie (2 șoareci au prezentat sero conversie împotriva rabiei); și 1 din cei 4 șoareci din specia *Microtus agrestis* au contactat rabie (3 șoareci au prezentat sero conversie împotriva rabiei). Rezultate similare au fost obținute prin vaccinarea cu tulpina SAD B19.

Testarea clinică a caracterului inofensiv al tulpinii de virus rabic Bio-10, care este o componentă a vaccinului folosit pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice comercializat sub numele de Lysvulpen, a fost realizată în condiții Optime de Practică de Laborator în cadrul infrastructurii de la Bioveta a.s. din Ivanovice na Hané, Republica Cehia. Șoarecii au fost ținuți în izolare în 6 cuve de reproducere, au fost hrăniți o dată pe zi și au avut apă la discreție. Identificarea animalelor a fost asigurată prin etichetarea cuvelor. Primul lot de producție al virusului Master

seed (MSV + 1) a fost utilizat pentru testare. Documentul OMS recomandă utilizarea unui titru maxim înzecit în teren. Deci, o doză de $10^{9,0}$ TCID₅₀ per ml a fost utilizată în acest test.

Conținutul de virus SAD Bio-10 al unei doze de vaccin Lysvulpen por. ad uş. vet. nu este mai mică de $1,8 \text{ ml} \times 10^{6,0}$ TCID₅₀ / ml și nici mai mare de $1,8 \text{ ml} \times 10^{8,0}$ TCID₅₀/ ml. Deci, doza maximă înzecită a fost $1,8 \text{ ml} \times 10^{9,0}$ TCID₅₀/ ml. Luând în considerare greutatea animalului experimental (șoarece), doza totală administrată a fost redusă: volumul virusului Bio-10 folosit pentru administrarea orală sau intramusculară a fost de 0,02 ml.

Greutatea șoarecilor experimentali a fost între 20 și 25 g, vârsta de 3 luni. Animalelor li s-a permis să se adapteze timp de 7 zile înainte de începerea testului. Pe perioada cât șoarecii au fost supuși examinării clinice, starea lor de sănătate a fost bună.

Animalele nu au fost nici anesteziate nici sedate. De fapt, anestezia sau sedarea pot conduce la administrarea incorectă a virusului: virusul poate pătrunde în cavitățile nazale unde nu poate intra în condiții fiziologice normale. Cavitățile nazale sunt foarte sensibile la contactarea rabiei. Administrarea rapidă a virusului vaccin în cavitatea bucală poate, de asemenea, modifica în mod necorespunzător calea de pătrundere a virusului în corpul animalului. Noi am administrat virusul cu o seringă specială cu volum de 0,1 ml. Șoarecii au fost imobilizați iar virusul a fost aplicat la rădăcina limbii. Datorită administrării lente șoarecele a înghițit virusul, deci efectul fiziologic a fost identic cu cel scontat dacă animalul ar fi mâncat o momeală ce conținea virusul în cadrul unei campanii naturale de imunizare. Pentru administrarea intramusculară, seringii i s-a atașat un ac foarte fin și virusul a fost administrat adânc intramuscular în mușchiul membrul pelvin al animalului. Volumul utilizat, 0,02 ml este foarte mic pentru o aplicare exactă cu o seringă obișnuită. Prin urmare, s-a folosit o seringă specială cu volum de 0,1 ml astfel încât volumul mic să poată fi administrat cu o precizie corespunzătoare. Faptul că virusul a intrat în contact cu organele imuno competente prin administrare intramusculară a fost evidențiat prin formarea de anticorpi antirabici de neutralizare a respectivului virus, observată la șoarecii din clasa CRL: CD1-FOXN1 NU în 28 de zile de la administrarea virusului. Anticorpii antirabici de neutralizare a virusului au fost detectați cu ajutorului testării FAVN, o metodă care permite titrului anticorpilor antirabici specifici să se exprime în unități recunoscute la nivel internațional (UI/ml). Nu au fost detectați anticorpi antirabici specifici la clasele de șoareci rămase în urma administrării virusului pe alte căi.

Din cei 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul Bio-10 pe cale orală, 1 șoarece a contactat rabie. Și în mod similar, din cei 10 șoareci din clasa Nud (CRL: CD1-FOXN1 NU) cărora le-a fost administrat virusul Bio-10 pe cale intramusculară, 1 șoarece a fost depistat cu rabie.

În ceea ce privește clasa SCID (CB17/ICR-PRKDC-SCID), nu a fost depistată rabia la niciunul dintre șoarecii cărora le-a fost administrat virusul pe cale orală, și s-a depistat la 4 șoareci din 10 cărora le-a fost administrat virusul pe cale intramusculară.

Rezultatele sunt similare acelor obținute în cazul administrării altor virusuri rabice folosite pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice împotriva acestei boli și indică o patogenitate reziduală relativ scăzută a tulpinii SAD Bio-10 în urma administrării la 2 clase de șoareci imunodeficienți.

BIBLIOGRAFIE

1. Blancou J, Meslin FX. *Modified live-virus rabies vaccines for oral immunization of carnivores*. În: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H, eds. *Laboratory techniques in rabies*, a 4-a ediție, Geneva: Organizația Mondială a Sănătății, 1996, 324-37.
2. Bingham J, Foggin CM, Gerber H, et al. *Pathogenicity of SAD rabies vaccine given orally in chacma baboons (*Papio ursinus*)*, Vet Rec 1992, 131: 55 -6.
3. Dean și Abelseth, 1973.
4. *Rabies Vaccine (Live, oral) for foxes, Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem*, Farmacopeea Europeană 2007, 9.952-953.
5. WHO Expert Consultation on Rabies, OMS Geneva, WHO Technical Report Series, 2005, nr. 931, p. 87.
6. Capitolul Rabia (2.1.13) din Manualul OIE, 2008, paragraful despre vaccinarea orală.
7. *The oral vaccination of foxes against rabies*, Raport al Comisiei Științifice asupra Sănătății și Bunăstării Animalelor, 2002, p. 55.
8. Al Optulea Raport al Comisiei de Experti a OMS asupra rabiei, OMS, Geneva, 1992.
9. Raport al Departamentului de Consultare al OMS asupra cerințelor și criteriilor de testare în teren a vaccinului antirabic asupra câinilor și carnivorelor sălbatice, Geneva, 1-2 martie 1989, doc. EHO/Rab.Res./89-32.
10. Raport al celui de-al 3-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 21-22 iulie 1992, Doc WHO/Rab.Res./92.38.
11. Cea de-a 4-a ședință de analiză asupra controlului rabiei în Europa, Piestany, 5-7 octombrie 1993.
12. Raport al celui de-al 4-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 14-15 iunie 1993, Doc. WHO/Rab.Res./94.42.
13. Raport al celui de-al 5-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 20-22 iunie 1994, Doc. WHO/Rab.Res./94.45.
14. Imunizarea orală a câinilor împotriva rabiei: raportul celui de-al 6-lea Departament de Consultare al OMS, Geneva, 24-25 iulie 1995, Doc WHO/EMC/ZDI/98.13, p.28.
15. Administrarea în teren a vaccinurilor antirabice orale pentru câini. consultare WHO-OIE, Geneva, 20-22 iulie 1998, WHO/EMC/ZD/98.15, p.24.
16. Mueller, T., Geue, L., Kliemt, J., Selhorst, T., Frost, J., Bunzenthal, C., Zimmer, K, Vanek, E., Revilla-Fernández, S., McElhinney, L., Fooks, A.: *Vaccine associated rabies cases in Germany and Austria*. RITA XVI, A 16-a conferință internațională asupra rabiei din America, Canada, 16-21 octombrie, 2005.
17. Elisabeth Vanek, Eveline Wodak, Sandra Revilla-Fernández, Zotán Bagó, Hermann Schildorfer, Andrea Hoeflechner, Michael Schoenbauer: *Fox rabies in Carinthia, Austria: A case report*. *Rabies Bulletin Europe*, volumul 28, nr. 2, Trimestrul 2, 2004, p.9.

18. Artois, M., Guittre, C., Thomas, I., Leblois, H., Brochier, B., și Barrat, J., (1992). *Potential pathogenicity for rodents of vaccines intended for oral vaccination against rabies: a comparison Vaccine*, 10: 524-528.
19. Bingham, J., Foggin, C.M., Gerber, H., Hill, F.W.G., Kappeler, A., King, A., Perry, B.D., și Wandeler, A., (1992). *Pathogenicity of SAD vaccine rabies vaccine given orally in Chacma baboons (Papio ursinus)*, Vet. Rec., 131: 55-56.
20. Rupprecht, C.E., Charlton, K.M., Artois, M., Casey, G.A., Webster, W.A., Campbell, J.B., Lawson, K.F., și Schneider, L.G. (1990). *Ineffectiveness and comparative pathogenicity of attenuated rabies virus vaccines for the striped skunk (Mephitis mephitis)*. J. Wildl. Dis., 26: 99 – 102.
21. Rupprecht, C.E., Blass, L., Smith, K., Orcinari, L.A., Niezgoda, M., Whitfield, S.G., Gibbons, R.V., Guerra, M., și Hanlon, C.A., (2001). *Human infection due to recombinant vaccinia-rabies glycoprotein virus*. New England. J. Med., 345: 582-586.
22. Steck, F., Wandeler, A., Bischel, P., Haflinger, U., și Schneider, L., (1982). *Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies*. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5: 165-171.
23. Vos, A., Neubert, A., Aylan, O., Schuster, P., Pommerening, E., Müller, T., și Chivatsi, D.C., (1999). *An update on safety studies of SAD B19 rabies virus vaccine in target and non-target species*. I. Epidermiol. Infect., 123: 165-75.

Tabel 5

Bio-10: examinarea organelor, clasa de șoareci CRL: CD1-FOXN1 NU, administrare orală

Șoarece #	Sex	Doză de virus (oral)	Examinarea post autopsie – IF și PCR						Rezultate clinice (28 de zile)
			<i>Creier</i>	<i>Glande salivare</i>	<i>Splină</i>	<i>Plămâni</i>	<i>Esofag</i>	<i>Mucoasă bucală</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

* - Stabilizat prin metoda imunofluorescenței (alte concluzii prin PCR)

N – Examinare neefectuată

Tabel 6**Bio-10: examinarea organelor, clasa de șoareci CRL: CD1-FOXN1 NU, administrare intramusculară**

Șoarece #	Sex	Doză de virus (intramuscular)	Examinarea post autopsie – IF și PCR						Rezultate clinice (28 de zile)
			<i>Creier</i>	<i>Glande salivare</i>	<i>Splină</i>	<i>Plămâni</i>	<i>Esofag</i>	<i>Mucoasă bucală</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

* - Stabilizat prin metoda imunofluorescenței (alte concluzii prin PCR)

N – Examinare neefectuată

Tabel 7

Bio-10: Lysvulpen por. ad us. vet: examinarea organelor, clasa de șoareci CB17/ICR-PRKDC-SCID, administrare orală

Șoarece #	Sex	Doză de virus (oral)	Examinarea post autopsie – IF și PCR						Rezultate clinice (28 de zile)
			<i>Creier</i>	<i>Glande salivare</i>	<i>Splină</i>	<i>Plămâni</i>	<i>Esofag</i>	<i>Mucoasă bucală</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

* - Stabilit prin metoda imunofluorescenței (alte concluzii prin PCR)

N – Examinare neefectuată

Tabel 8

Bio-10: examinarea organelor, clasa de șoareci CB17/ICR-PRKDC-SCID, administrare intramusculară

Șoarece #	Sex	Doză de virus (intramuscular)	Examinarea post autopsie – IF și PCR						Rezultate clinice (28 de zile)
			<i>Creier</i>	<i>Glande salivare</i>	<i>Splină</i>	<i>Plămâni</i>	<i>Esofag</i>	<i>Mucoasă bucală</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	poz.*	N	N	N	N	N	poz.
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	Neg.*	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

* - Stabilit prin metoda imunofluorescenței (alte concluzii prin PCR)

N – Examinare neefectuată

Tabel 9

Bio-10: răspunsul anticorpilor, clasa de șoareci CRL: CD1-FOXN1 NU, administrare orală

Șoarece #	Sex	Doză de virus (oral)	Anticorpi antirabici (IU/ml)		Observații
			0 <i>(înaintea testării)</i>	28 de zile <i>(după testare)</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – post mortem
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
Rezultat		0,02 ml x 10^{9,0} TCID₅₀/ml	0	0	

Tabel 10

Bio-10: răspunsul anticorpilor, clasa de șoareci CRL: CD1-FOXN1 NU, administrare intramusculară

Șoarece #	Sex	Doză de virus (intramuscular)	Anticorpi antirabici (IU/ml)		Observații
			0 <i>(înaintea testării)</i>	28 de zile <i>(după testare)</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,87	
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,50	
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,66	
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,50	
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,87	
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – pozitiv
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,55	
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,80	
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,65	
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0,75	
Rezultat		0,02 ml x 10^{9,0} TCID₅₀/ml	0	0,68	

Tabel 11**Bio-10: răspunsul anticorpilor, clasa de șoareci SCID (CB17/ICR-PRKDC-SCID), administrare orală**

Șoarece #	Sex	Doză de virus (oral)	Anticorpi antirabici (IU/ml)		Observații
			0 <i>(înaintea testării)</i>	28 de zile <i>(după testare)</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
Rezultat		0,02 ml x 10^{9,0} TCID₅₀/ml	0	0	

Tabel 12

Bio-10: răspunsul anticorpilor, clasa de șoareci (CB17/ICR-PRKDC-SCID), administrare intramusculară

Șoarece #	Sex	Doză de virus (intramuscular)	Anticorpi antirabici (IU/ml)		Observații
			0 <i>(înaintea testării)</i>	28 de zile <i>(după testare)</i>	
1	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
2	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – deces
3	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
4	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – deces
5	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
6	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
7	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
8	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – deces
9	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	Nespecificat	Rabie – deces
10	Feminin	0,02 ml x 10 ^{9,0} TCID ₅₀ /ml	0	0	
Rezultat		0,02 ml x 10^{9,0} TCID₅₀/ml	0	0	

Tabel 13**Bio-10: mortalitatea din cauza rabiei**

Clasa de șoareci	Număr de șoareci	Număr de supraviețuitori	Număr de decese	Rata mortalității, %	Observații
<i>CRL; CD1-FOXNI NU, p.o.</i>	10	9	1	10%	Rabie - pozitiv
<i>CRL; CD1-FOXNI NU, i.m.</i>	10	9	1	10%	Rabie – pozitiv
<i>CB17/ICR-PRKD-SCID, p.o.</i>	10	10	0	0%	Rabie – pozitiv
<i>CB17/ICR-PRKD-SCID, i.m.</i>	10	6	4	40%	Rabie - pozitiv
<i>CRL; CD1-FOXNI NU</i>	10	10	0	0%	Animale experimentale nevaccinate
<i>CB17/ICR-PRKD-SCID</i>	10	10	0	0%	Animale experimentale nevaccinate

Administrare: p.o. - orală, i.m. – intramusculară

Studiu privind siguranța tulpinii Bio-10-SAD Bern a virusului rabic asupra speciei de maimuțe rhesus macaque

Vladimir Vrzal

Bioveta a.s., Ivanovice na Hané, Republica Cehia

Recepționat 18 mai 2012

Acceptat 29 noiembrie 2012

Rezumat

Având ca bază recomandarea OMS, patogenitatea reziduală a tulpinii virusului rabic Bio-10-SAD Bern (componentă a vaccinului Lysvulpen por. ad us. vet.) a fost testată pe maimuțe rhesus macaque. Fiecăreia din cele zece maimuțe, femele, în vârstă de doi ani i s-au administrat pe cale orală $2 \text{ ml} \times 10^9$ TCID₅₀ de tulpină de virus rabic Bio-10-SAD Bern. Animalele au fost monitorizate timp de 90 de zile. Ulterior, animalele au fost exterminate și creierelor au fost examinate prin metoda imunofluorescenței și cea PCR, cercetându-se prezența virusului rabic. Apariția anticorpilor antirabici anterior și ulterior administrării virusului a fost de asemenea evaluată. Nu au fost observate simptome clinice de rabie și niciunul dintre animale nu a decedat de rabie în urma administrării virusului. Nu s-a detectat prezența rabiei în urma examinării *post mortem* a animalelor de studiu. Toate animalele au dezvoltat anticorpi antirabici pe durata celor 90 de zile ulterioare administrării virusului rabic. Se poate conchide că, virusul Bio-10-SAD Bern administrat într-o doză egală cu doza maximă înzecită specifică utilizării în teren este sigură pentru maimuțele din specia rhesus macaque. Acest studiu este primul de acest tip realizat asupra maimuțelor din specia rhesus macaque.

Virus vaccin, administrare orală, patogenitate reziduală, autopsie, anticorpi antirabici

Imunizarea pe cale orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei a devenit parte integrantă din lupta împotriva acestei boli fatale atât în Europa cât și în America de Nord.

Orice vaccin oral pentru imunizarea animalelor sălbatice ar trebui să fie eficient (de exemplu, să producă imunitate protectoare la speciile de animale țintă) și trebuie să fie inofensiv atât pentru speciile de animale țintă cât și pentru cele care nu sunt țintă. Caracterul inofensiv este evaluat la speciile de animale țintă dar și la alte specii de animale (care nu sunt țintă) care pot intra în contact cu vaccinul în urmă răspândirii lui în mediul înconjurător. Vaccinul nu trebuie nici să inducă rabia la animale și nici s-o răspândească animalelor sensibile la această boală prin intermediul celor vaccinate.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS 2005), Organizația Mondială pentru Sănătatea Animalelor (OMSA 2002, 2008) și Farmacopeea Europeană (2007) au identificat condiții și au publicat recomandări legate de cerințele vaccinurilor intenționate a fi utilizate pentru imunizarea orală a animalelor sălbatice, care trebuie îndeplinite înainte ca vaccinurile să fie lansate pentru utilizarea în teren. Blancou și Meslin (1996) au recomandat ca testul de patogenitate reziduală să fie realizat pe maimuțe.

Scopul acestui studiu a fost verificarea siguranței tulpinii de virus rabic Bio-10-SAD Bern asupra maimuțelor rhesus macaque în condiții optime de practică de laborator (GLP).

Materiale și metode

Tulpina de virus rabic Bio-10-SAD Bern

În cadrul acestui studiu s-a folosit tulpina virusului rabic Bio-10-SAD Bern în primul lot de producție (MSV + 1). Virusul Bio-10-SAD Bern își are originea în tulpina SAD Bern (tulpină de vaccin utilizată pentru imunizarea animalelor sălbatice împotriva rabiei).

Titrul folosit al tulpinii virusului rabic Bio-10-SAD Bern a fost 10^9 TCID₅₀/ml (TCID₅₀ este definit ca o diluare a virusului necesară pentru a infecta 50% din cultura de celule inoculată) care este de 10 x titrul maxim al virusului din vaccinul Lysvulpen por. ad us. vet. folosit în teren pentru vaccinarea orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei.

Adresă de corespondență:

Dr. MV Vladimir Vrzat, CSs.
Bioveta, a.s., Komenského 212
683 23 Ivanovice na Hané
Republica Cehia

E-mail: vrzal.vladimir@bioveta.cz
[http:// actavet_vlu.cz/](http://actavet_vlu.cz/)

Animale de studiu

Grupul animalelor de studiu a fost alcătuit din 10 maimuțe femele din rasa rhesus macaque (*Macaca mulatta*) din propriul nostru laborator de reproducere Biotest Konávorice, în vârstă de 2 ani, cu o masă corporală între 3,3 până la 4,2 kg, nevaccinate împotriva rabiei, deparazitate de către Ivomec (Merial, Franța) cu o doză de 0,2 mg ivermectină per kg de masă corporală înainte de examinarea din laborator. Experimentul a fost aprobat de Ministerul Agriculturii (Nr. 10984/2010-MZE-17210). Inițial maimuțele au fost așezate în cuști în mod individual. Temperatura ambiantă a fost 20-24° C, umiditatea relativă 30-70%; variabilele de ambient au fost monitorizate și înregistrate zilnic. Cuștile au fost curățate de două ori pe săptămână iar aerul proaspăt era furnizat zilnic. Condițiile au inclus și lumina naturală. Maimuțele au fost hrănite cu hrană normală granulată, suplimentată cu fructe sau legume proaspete. Animalelor li s-a permis să se adapteze timp de 2 săptămâni în cuștile lor înainte de administrarea virusului. După administrarea virusului, fiecare animal a fost ținut în cușca sa pe întreaga perioadă de 90 de zile.

Administrarea virusului, recoltarea de sânge și prelevarea probelor

Tulpina virală a Bio-10-SAD Bern a fost administrată pe cale orală la rădăcina limbii în cantitate de $2,0 \text{ ml} \times 10^{9,0} \text{ TCID}_{50}$ (de zece ori doza maximă a virusului din teren). Nu au fost administrate niciun fel de medicamente sedative. Fiecare maimuță a fost imobilizată fizic, i-a fost introdus un căluș și după ce i s-a deschis gura, virusul test a fost administrat foarte încet cu ajutorul unei seringi de plastic prevăzută cu un dispozitiv de cauciuc în loc de ac. Maimuța a fost monitorizată în timp ce înghițea virusul pe durata administrării lente a acestuia. Înainte de administrare, animalele au fost cântărite și li s-a recoltat sânge pentru a măsura volumul de anticorpi antirabici din el. Maimuțele au fost monitorizate zilnic cu accent pe apariția simptomelor clinice de rabie. Animalele au fost cântărite zilnic. În a 90-a zi a perioadei de monitorizare li s-a recoltat sânge din nou pentru măsurarea anticorpilor antirabici, apoi animalele au fost exterminate prin administrarea intravenoasă a preparatului farmaceutic T 61 (producător Intervet Internațional B.V., Olanda) într-o doză de 0,5 ml/ 1 kg de masă corporală. Mostre din cortexul cerebral, cerebel, medulla oblongata și hipocamp au fost prelevate în timpul autopsiei pentru depistarea rabiei prin metoda imunofluorescenței și prin metoda PCR.

Examinarea probelor biologice

Mostrele de ser din sângele recoltat, atât înainte cât și după testare, au fost analizate pentru depistarea prezenței de anticorpi antirabici cu ajutorul testului Neutralizare Fluorescentă a Virusului Anticorp (FAVN) (Clinquet et al. 1998).

Mostrele din creier (cortex cerebral, cerebel, medulla oblongata și hipocamp) au fost examinate prin metoda fluorescenței directe pentru depistarea prezenței antigenului virusului. (Dean și Abelseth 1973).

Aceleași mostre de creier (cortex cerebral, cerebel, medulla oblongata și hipocamp) au fost examinate prin metoda Reacției de Polimerizare în Lanț (PCR) pentru depistarea prezenței antigenului virusului. (Wakeley et al. 2005).

ARN-ul complet a fost izolat direct din 20% țesut cerebral omogenizat folosind un dispozitiv de lucru BioRobot M48 și un Kit MagAttract Viral RNA M48, așa cum a fost recomandat de către producător (Qiagen). ARN a fost folosit TaqMan RT-PCR ca model în procedura în timp real și într-o singură fază, folosind ș kit-ul Qiagen One Step RT-PCR. Pentru un singur rezervor de apă au fost utilizate următoarele: 5,75 μl RNase, 5 μl 5 x amortizor de reacție RT-PCR, 1 μl amestec dNTP (100mM), 6 μl MgCl₂ (25inM), 0,1 μl RNAsin (Promega), 1 μl amestec de enzime, 0,2 μl fiecare pentru primer pentru înainte și înapoi (50 μM) și 0,25 μl amestec de sondă (30 μM). Primerii și sondele folosite în cadrul testului au fost publicate de Wakely et al. 2005. La final s-au folosit 5 μl de ARN la un volum total de 25 μl. Au fost efectuate RT-PCR-uri pe un Ciclu iQ5 (BioRad). A fost folosit următorul profil de temperatură: 30 min la 60° C (transcriere inversă), 15 min la 95° C (inactivare transcriptază inversă/ activare polimerizare) urmată de 45 de cicluri la 10 s la 95° C (denaturare), 45 s la 55° C (călire) și 30 s la 72° C (prelungire). Valorile de fluorescență au fost înregistrate în timpul fazelor de călire. Pentru testul în timp real TaqMan RT-PCR, ciclul limită al virusului SAD Bern cu titrul $10^{7,63} \text{ TCID}_{50}/ \text{ ml}$ a fost folosit ca dispozitiv de control pozitiv și a fost stabilit ca egal cu 22.

Nr. animal	Anticorpi antirabici (IU/ml) 3 luni după testare
1	7,8
2	7,8
3	1,5
4	> 40
5	5,0
6	13,5
7	1,5
8	> 40
9	> 40
10	10,3

Rezultate

Nu au fost înregistrate deviații de la starea fiziologică normală și nici simptome de rabie prin monitorizarea zilnică a celor 10 maimuțe. Toate mostrele (cortex cerebral, cerebel, medulla oblongata și hipocamp) prelevate în timpul autopsiei după finalizarea testării virusului rabic atât prin fluorescență directă cât și prin metodă, au rezultat ca fiind negative.

Folosind metoda FAVN, nu au fost detectați anticorpi la animale înainte de testare. După finalizarea testului toate cele 10 maimuțe au manifestat anticorpi antirabici specifici de la 1,5 IU/ml până la mai mult de 40 IU/ml (Tabel 1).

Dezbateri

Multe țări din Europa s-au angajat în acest proiect, lansat în 1978, de vaccinare orală a animalelor sălbatice împotriva rabiei utilizând vaccinuri ce conțin tulpini vii reduse de rabie derivate din tulpinile SAD. OMS a lansat o serie de recomandări legate de evaluarea caracterului inofensiv al vaccinurilor orale (OMS 1989, 1992, 1992b, 1993, 1993 b, 1994, 1995, 1998). Cu toate acestea, utilizarea vaccinurilor este asociată cu unele riscuri ale patogenității reziduale reprezentate de derivatele tulpinii SAD.

Patogenitatea reziduală superioară la rozătoare a fost subiectul lucrărilor lui Winkler et al. (1976), Wachendöfer et al. (1978), Steck et al. (1982), Leblois et al. (1988), Artois et al. (1992) și Vos et al. (1999). Wandeler (1988) a descris rabia la un pui de vulpe, o pisică și un jder de piatră în urma administrării orale a tulpinii SAD Bern. Rupprecht (1990) a raportat rabie la 7 sconeși din 11 animale cărora le-a fost administrat virusul vaccin SAD B-19 *per os*.

Rabia a fost identificată de către Bingham et al. (1992) la 2 din 4 *Papio ursinus* cărora le-a fost administrată tulpina SAD Bern pe cale orală. Un caz de rabie la vulpi în urma administrării orale a virusului SAD B19 în vederea imunizării orale a fost identificat în Austria (Vanek et al. 2004). Patru vulpi cu rabie indusă de virusul SAD B19 au fost identificate în Germania în timpul campaniilor de vaccinare orală împotriva rabiei din 2001, 2002, 2004 și 2005 (Mueller et al. 2005). Șaisprezece cazuri de rabie post-vaccinare au fost înregistrate în Canada între 1989-2004

la 4 vulpi roșii, 2 câini enot, 2 sconșii și 1 vițel printre alte animale (întâlnirea RITA Brazilia 2006).

Din păcate, acest risc este indicat și de noile vaccinuri antirabice. Tulpina mutagenă de rabie SAG 1 reține patogenitatea reziduală în urma administrării intracerebrale la șoareci sugari (Schumacher et al. 1993). Unei femei tinere, mușcată de un câine când încerca să îi îndepărteze din gură mâncarea momeală, i-au apărut leziuni ale pielii de tipul variolei, din cauza recombinantului de tulpină de rabie VRG (Rupprecht et al. 2001).

Cazul de patogenitate reziduală al tulpinii SAD Bern, în urma administrării orale a 2 ml la titru de $10^{7.5}$ TCID₅₀ fiecăruia dintre cei 4 babuini și care a indus rabie fatală la 2 dintre aceștia (perioadă de incubare între 11 și 13 zile), a fost citat în mod frecvent în legătură cu apariția acesteia la derivatele tulpinii SAD (Bingham et al. 1992). Totuși, multe aspecte ale acestui caz sunt neclare. Inocularea exactă a virusului în cavitatea bucală nu este clară; virusul ar fi putut fi administrat în cavitatea nazală sporind astfel predispoziția animalelor la rabie (virusul vaccin a fost administrat animalelor anesteziate). În plus, starea sănătății animalelor este necunoscută, în special în ceea ce privește statutul imunității lor (dacă animalele au o slabă imunizare), contaminarea lor cu diferiți paraziți, etc. Nu există informații despre găzduirea babuinilor, tiparele de alimentație, tratamentul sau alte informații relevante pentru evaluarea experimentului. De aceea am decis (în concordanță cu recomandările OMS) să reproducem testarea pe o specie similară de maimuțe și anume rhesus macaque și pe un grup mai mare de animale (n = 10) în condiții obiective stricte.

În contrast cu testarea mai sus menționată de către Bingham et al. (1992) și cu testarea mai recentă a lui Vos et al. (1999), maimuțele din experimentul nostru nu au fost anesteziate sau sedate cu nici un fel de medicament farmaceutic. De fapt, anestezia sau sedarea pot conduce la administrarea incorectă a virusului; virusul poate pătrunde în cavitățile nazale unde nu poate intra în condiții fiziologice normale. Acest loc este foarte predispus la inducerea rabiei. Noi am administrat virusul cu ajutorul unei seringi de plastic prevăzută cu un dispozitiv de cauciuc. Maimuțele au fost imobilizate de personalul laboratorului (membrele toracice au fost fixate în urma corpului, capul a fost ținut în poziție fixă de către o asistentă și gură a fost ținută deschisă cu un căluș prevăzută cu o deschizătură). Virusul a fost administrat prin deschizătura călușului la rădăcina limbii cu ajutorul unei seringi de plastic prevăzută cu un dispozitiv de cauciuc. Datorită administrării lente, maimuța a înghițit virusul, deci efectul fiziologic a fost identic cu cel scontat dacă animalul ar fi mâncat o momeală ce conținea virusul în cadrul unei campanii naturale de imunizare. Faptul că virusul a intrat în contact cu organele imuno competente (amigdale) a fost evidențiat prin formarea de anticorpi antirabici de neutralizare a respectivului virus. Anticorpii antirabici de neutralizare a virusului au fost detectați cu ajutorul testării FAVN, o metodă care permite titrului anticorpilor antirabici specifici să se exprime în unități recunoscute la nivel internațional.

Nu au fost observate deviații de la starea normală de sănătate a animalelor în timpul perioadei de monitorizare de 90 de zile după administrarea virusului. Animalele experimentale au dat impresia de sănătate, au mâncat foarte bine cu un apetit normal și au luat în greutate. Examinarea *post mortem* a celor 4 părți ale creierului care sunt foarte sensibile la rabie, de exemplu cortexul cerebral, cerebelul, medulla oblongata și hipocampul, folosindu-se testarea senzitivă cu fluorescență directă sau testarea PCR extrem de senzitivă, nu au indicat rabie la niciun animal.

Administrat în doze egale cu doza maximă înzecită specifică pentru speciile de animale țintă, tulpina virusului rabic Bio-10-SAD Bern a fost absolut inofensivă pentru animalele experimentale din specia maimuțelor rhesus macaque.

Bibliografie

Artois, M., Guittre, C., Thomas, I., Leblois, H., Brochier, B., și Barrat, J., (1992). *Potential pathogenicity for rodents of vaccines intended for oral vaccination against rabies: a comparison* Vaccine, 10: 524-528.

Bingham J, Foggin CM, Gerber H, Hill FWG, Kappeler A, King AA, Perry BD, Wandeler Al 1992: *Pathogenicity of SAD rabies vaccine given orally in chacma baboons (Papio ursinus)*, Vet Rec 1992, 131: 55 -6.

Blancou J, Meslin FX 1996. *Modified live-virus rabies vaccines for oral immunization of carnivores*. În: Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H (Ed). *Laboratory techniques in rabies*, Organizația Mondială a Sănătății, Geneva, p. 324-337.

Clinquet F, Aubert M, Sangé L 1998: *Development of a fluorescent antibody virus neutralization test (FAVN test) for the quantitation of rabies – neutralizing antibody*. J Immunol Methods 212: 79-87.

Dean DJ, Abelseth MK 1973: *The fluorescent antibody test*. În: Kaplan MM, Koprowski H: *Laboratory Techniques in Rabies*, Organizația Mondială a Sănătății, Geneva, p. 73-84.

Al Optulea Raport al Comisiei de Experți a OMS asupra rabiei (1992). OMS, Geneva.

Farmacopeea Europeană 2007: *Vaccinum rabiei perorale vivum ad vulpem* (live, oral): 0746.

Administrarea în teren a vaccinurilor antirabice orale pentru câini. Departamentul de Consultare al WHO-OIE, Geneva, 20-22 iulie 1998, Doc. WHO/EMC/ZD/98.15, p. 24.

Mueller, T., Geue, L., Kliemt, J., Selhorst, T., Frost, J., Bunzenthal, C., Zimmer, K, Vanek, E., Revilla-Fernández, S., McElhinney, L., Fooks, A.: *Vaccine associated rabies cases in Germany and Austria*. RITA XVI, A 16-a conferință internațională asupra rabiei din America, Canada, 16-21 octombrie, 2005.

Capitolul Rabia (2.1.13) din Manualul OIE, 2008, paragraful despre vaccinarea orală.

Raport al Departamentului de Consultare al OMS asupra cerințelor și criteriilor de testare în teren a vaccinului antirabice asupra câinilor și carnivorelor sălbatice, Geneva, 1-2 martie 1989, doc. EHO/Rab.Res./89-32.

Raport al celui de-al 3-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 21-22 iulie 1992, Doc WHO/Rab.Res./92.38.

Raport al celui de-al 4-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 14-15 iunie 1993, Doc. WHO/Rab.Res./94.42.

Raport al celui de-al 5-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 20-22 iunie 1994, Doc. WHO/Rab.Res./94.45.

Raport al celui de-al 6-lea Departament de Consultare al OMS asupra imunizării orale a câinilor împotriva rabiei, Geneva, 24-25 iulie 1995, Doc. WHO/EMC/ZDI/98.13, p. 28.

Rupprecht, C.E., Charlton, K.M., Artois, M., Casey, G.A., Webster, W.A., Campbell, J.B., Lawson, K.F., și Schneider, L.G. 1990. *Ineffectiveness and comparative pathogenicity of attenuated rabies virus vaccines for the striped skunk (Mephitis mephitis)*. J. Wildl. Dis., 26: 99 – 102.

Rupprecht, C.E., Blass, L., Smith, K., Orcinari, L.A., Niezgod, M., Whitfield, S.G., Gibbons, R.V., Guerra, M., și Hanlon, C.A., 2001: *Human infection due to recombinant vaccinia-rabies glycoprotein virus*. New England. J. Med., 345: 582-586.

Steck, F., Wandeler, A., Bischof, P., Haflinger, U., și Schneider, L., 1982. *Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies*. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 5: 165-171.

The oral vaccination of foxes against rabies (2002): Raport al Comisiei Științifice asupra Sănătății și Bunăstării Animalelor, p. 55.

Wakeley PR, Johnson N, McElhinney LM, Marston D, Sawyer J, Fooks AR 2005: *Development of a real-time, TaqMan reverse transcription – PCR assay for detection and differentiation of lyssavirus genotypes 1, 5 and 6*, J Clin Microbiol 43: 2786-2792.

Vanek E, Wodak E, Revilla-Fernández S, Bagó, Schildorfer H, Hoellechner A, Schoenbauer M 2004: *Fox rabies in Carinthia, Austria: A case report*. Rabies Bulletin Europe 28: 9.

Vos, A., Neubert, A., Aylan, O., Schuster, P., Pommerening, E., Müller, T., și Chivatsi, D.C., (1999). *An update on safety studies of SAD B19 rabies virus vaccine in target and non-target species*. I. Epidemiol. Infect., 123: 165-75.

Ședința de analiză WHO/OIE asupra controlului rabiei în Europa, Piastany, 5-7 octombrie 1993.

WHO Expert Consultation on Rabies, OMS Geneva (2005): WHO Technical Report Series, nr. 931, p. 87.