

ГЛАВА 3.5.12

ВЕНЕСУЭЛЬСКИЙ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТ ЛОШАДЕЙ

РЕЗЮМЕ

Вирусы венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ), принадлежащие к роду альфавирусов (Alphavirus) семейства тогавирусов (Togaviridae), являются возбудителями болезни, формы которой варьируются от легких фебрильных реакций до смертельных энцефалитических зоонозов у представителей семейства лошадиных и людей. Переносчиками вирусов являются насекомые-гематофаги, прежде всего комары, питающиеся кровью млекопитающих.

Комплекс вирусов ВЭЛ включает шесть антигенных подвидов (I–VI). Подвид I состоит из пяти антигенных вариантов (варианты АВ–F). Изначально подвиды I-A и I-B считались отдельными вариантами, однако в настоящее время они считаются идентичными (I-AB). Антигенные варианты I-AB и I-C связаны с эпизоотической активностью в эпидемиях у представителей семейства лошадиных и у людей. Согласно имеющимся сведениям, очень сильные вспышки эпидемии охватывали множество тысяч случаев заболевания людей и лошадиных. Другие три варианта подвида I (I-D, I-E, I-F) и другие пять подвидов ВЭЛ (II–VI) циркулируют в естественных энзоотических циклах. Представители семейства лошадиных служат в качестве хозяев, распространяющих эпизоотические штаммы ВЭЛ, в то время как энзоотические вирусы ВЭЛ передаются преимущественно между лесными грызунами и москитами. Энзоотические варианты и подвиды считаются непатогенными для семейства лошадиных, однако они могут вызывать клиническое заболевание у людей. На протяжении 1993 и 1996 годов отмечалось, что ограниченные вспышки энцефалита у лошадей в Мексике были вызваны энзоотическими вирусами ВЭЛ подвида I-E. В последние годы единичные вспышки наблюдались в Мексике, Центральной Америке, а также в северной и западной частях Южной Америки. Энзоотические подвиды, являющиеся возбудителями заболевания у людей, более широко распространены на севере Центральной и Южной Америки (Weaver, 2012).

Идентификация возбудителя болезни: *Диагностированное заражение вирусом ВЭЛ может быть подтверждено путем выделения, идентификации и антигенной классификации выделенных вирусов.*

Предварительный диагноз энцефаломиелита лошадей может быть поставлен в том случае, когда восприимчивые животные, находящиеся на территории тропического или субтропического поясов, где проявляют активности насекомые-гематофаги, демонстрируют клинические признаки энцефаломиелита. Вирус ВЭЛ может быть выделен в клеточных культурах или в организме опытных животных с помощью крови или сыворотки крови животных, демонстрирующих признаки лихорадки и находящихся на ранней стадии заражения. В более редких случаях вирус выделяется из крови или мозговой ткани животных, больных энцефалитом.

Вирус ВЭЛ может быть идентифицирован с помощью полимеразной цепной реакции, реакции связывания комплемента, ингибирования гемагглютинации, реакции нейтрализации бляшкообразования (РНБО) или с помощью реакций иммунофлюоресценции с использованием ВЭЛ-специфических антител. Идентификация эпизоотических вариантов вируса ВЭЛ может осуществляться с помощью непрямой реакции флюоресцирующих антител, дифференцированной РНБО с использованием

подтип- или вариант-специфических моноклональных антител или с помощью секвенирования нуклеиновых кислот.

Серологические реакции: Наличие специфических антител к эпизоотическим вариантам вируса ВЭЛ может быть установлено методом РНБО или методом твердофазного иммуноферментного анализа для выявления иммуноглобулинов класса М. Антитела также могут быть обнаружены при помощи ингибирования гемагглютинации или реакции связывания комплемента.

Любое диагностирование ВЭЛ у отдельных особей, основанное на серологической конверсии в отсутствие эпизоотического процесса, должно осуществляться с осторожностью. Заражение лошадиных энзоотическими вирусами ВЭЛ приводит к развитию виремии низкого уровня, сопровождающейся выработкой антител. Однако в большинстве случаев такое заражение не имеет проявлений, характерных для клинического заболевания. Антитела, вырабатываемые под воздействием таких бессимптомных (субклинических) инфекций, могут быть активными по отношению к эпизоотическим вариантам вируса ВЭЛ.

Требования к вакцинам: Единственными разрешенными вакцинами против ВЭЛ являются аттенуированная вирусная вакцина, изготовленная с использованием штамма ТС-83, или инактивированные вирусные препараты, также изготовленные с использованием этого штамма. Аттенуированный вирус обладает иммуногенными свойствами в случае его внутримышечного введения, однако в некоторых случаях он вызывает у реципиента нежелательные реакции.

Препараты инактивированного с помощью формалина вирулентного вируса ВЭЛ ни при каких обстоятельствах не должны вводиться представителям семейства лошадиных, поскольку остаточный вирулентный вирус может сохраняться даже после обработки формалином и, таким образом, вызывать тяжелое заболевание, как у животных, так и у людей. Наблюдались вспышки заболевания животных ВЭЛ, вызванные использованием таких обработанных формалином вирусов.

А. ВВЕДЕНИЕ

Венесуэльский энцефаломиелит лошадей (ВЭЛ) представляется собой передающуюся членистоногими и вызывающую воспалительные реакции вирусную инфекцию представителей семейства лошадиных и людей, в результате заражения которой развивается энцефалитическое заболевание, приводящее к развитию лихорадочного состояния от легкой до тяжелой степени тяжести и, в отдельных случаях, к летальному исходу.

Вирусы ВЭЛ формируют комплекс в составе рода *альфавирусов* семейства *тогавирусов*. Комплекс вируса ВЭЛ состоит из шести подвидов (I–VI). Подвид I включает в себя пять антигенных вариантов (A–F), из которых варианты 1-AВ и 1-C связаны с эпизоотическим ВЭЛ у лошадиных и сопутствующими эпидемиями у людей (Calisher *et al.*, 1980; Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton *et al.*, 1973; Walton & Grayson, 1989). Считается, что эпизоотические варианты 1-AВ и 1-C возникли в результате мутаций энзоотического серотипа 1-D (Weaver *et al.*, 2004); изоляты 1-AВ и 1-C были получены только во время вспышек заболевания среди лошадиных. Энзоотические штаммы включают в себя варианты 1-D, 1-E и 1-F подтипа I, подтип II, четыре антигенных варианта (A–D) подтипа III и подтипы IV–VI. Как правило, энзоотические варианты вирусов ВЭЛ не вызывают развитие клинического энцефаломиелита у представителей семейства лошадиных (Walton *et al.*, 1973), однако в 1993 и 1996 годах в Мексике энзоотический подвид 1-E становился причиной

возникновения ограниченных вспышек заболевания среди лошадей. Энзоотические варианты и подвиды могут являться возбудителями этой болезни у людей (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Powers *et al.*, 1997; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989).

Согласно имеющимся данным, эпизоотический ВЭЛ был ограничен севером и западом Южной Америки (Венесуэла, Колумбия, Эквадор, Перу и Тринидад) (Pan-American Health Organization, 1972). Однако с 1969 года по 1972 год эпизоотическая активность вируса (вариант I-AB) наблюдалась в Гватемале, Сальвадоре, Никарагуа, Гондурасе, Коста-Рике, Белизе, Мексике и Соединенных Штатах Америки (США) (штат Техас). Вспышки ВЭЛ, вызванные вирусом I-AB или I-C, не наблюдались в Северной Америке и Мексике с 1972 года. Последними изолятами эпизоотического вируса ВЭЛ у лошадиных и людей были штаммы подвида I-C из Венесуэлы, полученные в 1993, 1995 и 1996 годах, и из Колумбии, полученные в 1995 году.

Очаги энзоотических вариантов и подвидов обнаружены в зонах, классифицируемых как влажный тропический лес, т. е. в зонах, имеющих высокий уровень грунтовых вод, или на открытой болотистой местности, освещаемой непрямым солнечным светом. Такими зонами являются зоны, расположенные на американских континентах, где дожди наблюдаются на протяжении всего года, или зоны, имеющие непрерывное водоснабжение. Энзоотические вирусы передаются между грызунами и, возможно, птицами, посредством акта питания комаров (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Штаммы энзоотического ВЭЛ были идентифицированы в эверглейде (болотистой местности) Флориды (подвид II), Мексике (вариант I-E), в странах Центральной Америки (вариант I-E), в Панаме (варианты I-D и I-E), Венесуэле (вариант I-D), Колумбии (вариант I-D), Перу (варианты I-D, III-C и III-D), Французской Гвинеи (вариант III-B и подвид V), Эквадоре (вариант I-D), Суринаме (вариант III-A), Тринидаде (вариант III-A), Бразилии (варианты I-F и III-A и подвид IV) и Аргентине (подвид VI). В атипичной экологической нише вариант III-B был выделен в США (штаты Колорадо и Южная Дакота), в которых была зафиксирована его нетипичная связь с птицами (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Вирус, обнаруженный в эверглейде, относится к подвиду II вируса ВЭЛ, которым заражаются грызуны и собаки во Флориде.

Предварительная диагностика вирусного энцефаломиелита у лошадиных может основываться на случаях развития острого неврологического заболевания в летний период в условиях умеренного климата или в период дождей в условиях тропического и субтропического климата. Эти периоды являются периодами активности насекомых-гематофагов. Заражение вирусной инфекцией в этих условиях приведет к развитию клинической болезни, скорее, параллельно у множества особей, принадлежащих к семейству лошадиных, чем у отдельных особей данного семейства. Энзоотическая активность может распространяться на обширные территории посредством восприимчивых популяции в течение короткого времени (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Дифференцированная диагностика включает в себя диагностику случаев развития энцефаломиелита лошадей в восточных и западных областях (глава 2.5.5), а также диагностику японского энцефаломиелита (глава 2.1.10), лихорадки Западного Нила (западно-нильского энцефалита) (глава 2.1.24), бешенства (глава 2.1.17) и других инфекций, а также случаев заражения паразитами и неинфекционными агентами, приводящими к возникновению схожих симптомов.

Случаи заражения вирусом ВЭЛ людей были связаны с передачей вируса через взвешенные в воздухе частички мусора, находившегося в клетках инфицированных подопытных грызунов, а также с инцидентами в лаборатории. Случаи заражения как эпизоотическими, так и энзоотическими вариантами и подвидами вируса были зафиксированы среди сотрудников лаборатории (American Committee on Arthropod-Borne Viruses [ACAV], 1980). У людей могут наблюдаться случаи тяжелой клинической болезни или летального исхода. Лица, выполняющие манипуляции с вирусами ВЭЛ или их антигенами, приготовленными из инфицированных тканей или культур клеток, должны быть привиты и иметь выраженный иммунитет в форме вирус-специфических антител, нейтрализующих вирус ВЭЛ (Berge *et al.*, 1961; Pan-American Health Organization, 1972). Если вакцинация является нецелесообразной, во время проведения всех процедур рекомендуется использовать дополнительные индивидуальные средства защиты, включающие в себя защиту органов дыхания. Все манипуляции в лаборатории должны выполняться при соблюдении надлежащего уровня биобезопасности и мер предосторожности, определяемого с помощью анализа биологического риска (см. главу см. главу 1.1.4 *Биобезопасность и биосохранность: Стандарты управления биологическим риском в ветеринарной лаборатории и помещениях для содержания животных*)

В. ТЕХНОЛОГИИ ДИАГНОСТИКИ

Таблица 1. Методы исследований, применяемые для диагностики венесуэльского энцефаломиелимита лошадей и их цель

Метод	Цель				
	Отсутствие инфекции в популяции	Отсутствие инфекции у отдельных животных	Подтверждение клинических случаев	Надзор за распространением инфекции	Иммунный статус отдельных животных или популяций после вакцинации
Идентификация возбудителя болезни¹					
Идентификация возбудителя болезни	-	+	+++	-	-
Обнаружение иммунного ответа					
Твердофазный ИФА с целью выявления иммуноглобулинов класса М	-	-	++	-	-
Реакции нейтрализации бляшкообразования (РНБО) (парные выборки)	+++	+	++	++	+++
Ингибирование гемагглютинации (парные выборки)	+	++	++	++	++
Реакция связывания комплемента (парные выборки)	-	+	++	-	-

Пояснение: +++ = рекомендованный метод; ++ = приемлемый метод; + = может быть использован в некоторых ситуациях, но применение существенно ограничено стоимостью, достоверностью или другими факторами;

¹ Для анализа клинического образца рекомендуется использовать сочетание методов идентификации возбудителя.

– = не подходит для данной цели.

Хотя не все тесты, относящиеся к категории +++ или ++ формально валидированы, они признаны приемлемыми по причине применения их в установившейся практике и широкого использования без неоднозначных результатов.

твердофазный ИФА = твердофазный иммуноферментный анализ.

1. Идентификация возбудителя болезни

Подтверждающая диагностика ВЭЛ основана на выделении и идентификации вируса или на демонстрации серологической конверсии. Период виремии совпадает с периодом развития лихорадочного состояния, составляющего 12–24 часов с момента заражения. Виремия завершается через 5–6 дней после заражения, что совпадает с выработкой нейтрализующих антител и появлением клинических неврологических симптомов. Зачастую вирусы ВЭЛ не могут быть выделены из мозга инфицированных лошадей. Забор образцов крови для выделения вируса должен осуществляться у животных, находящихся в лихорадочном состоянии, тесно связанном с клиническими случаями развития энцефалита.

Вирус может быть выделен из крови или сыворотки инфицированных путем интрацеребрального заражения прививкой мышей или хомяков в возрасте 1–4 дней или других зараженных прививкой подопытных животных, таких как морские свинки и отлученные от матери мыши. Также вирус может быть выделен путем прививки различных культур клеток, включая клетки почки африканской зеленой мартышки (клетки Веро), клетки почки кролика (РК-13), клетки почки детеныша хомяка (ВНК-21) или фибробласты эмбриона утки или курицы, а также путем заражения прививкой куриных яиц с зародышем. Техники идентификации вируса подробно описаны в главе 2.5.5.

Выделенные вирусы могут быть идентифицированы как вирусы ВЭЛ методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ПЦР ОТ), реакции связывания комплемента (СК), ингибирования гемагглютинации (ИГ), реакции нейтрализации бляшкообразования (РНБО) или с помощью реакций иммунофлюоресценции, которые описаны в главе 2.5.5. Характеристика выделенных вирусов ВЭЛ может выполняться с помощью непрямого метода флюоресцирующих антител или с помощью метода РНБО с использованием моноклональных антител, а также с помощью метода секвенирования нуклеиновых кислот. Характеристика вируса ВЭЛ должна производиться в справочной лаборатории (см. таблицу, приведенную в части 4 настоящего *Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных*).

2. Серологические тесты

Диагностика вируса ВЭЛ у лошадиных требует демонстрации наличия специфических антител в образцах парных сывороток, полученных в острой фазе болезни и в фазе выздоровления. Антитела РНБО появляются в течение 5–7 дней после заражения, антитела СК – в течение 6–9 дней после заражения, а антитела ИГ – в течение 6–7 дней после заражения. Образцы сыворотки во второй фазе (фазе выздоровления) должны быть получены через 4–7 дней после сбора образцов в первой, острой фазе болезни или во время смерти животного. Процедуры серологических тестов подробно описаны в главе 2.5.5. При интерпретации результатов любых серологических тестов на наличие вируса ВЭЛ необходимо принимать во внимание информацию, содержащуюся в вакцинационном анамнезе. У лошадей, привитых штаммом аттенуированного живого вируса не в недавнем времени, демонстрация наличия ВЭЛ-специфических антител к иммуноглобулину класса М в единственном образце сыворотки является подтверждением недавнего заражения вирусом.

Любое диагностирование ВЭЛ у отдельных особей, основанное на серологической конверсии в отсутствие эпизоотического процесса, должно осуществляться с осторожностью. Хотя энзоотические подтипы и варианты не являются патогенными для лошадиных, заражение будет способствовать выработке антител к эпизоотическим вариантам вируса ВЭЛ.

С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ

1. Основные сведения

Разрешенными к использованию вакцинами против вируса ВЭЛ являются аттенуированная вирусная вакцина, штамм ТС-83, а также инактивированный вирусный препарат, изготовленный из этого штамма (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Необходимо соблюдать инструкции по применению, прилагаемые к имеющимся в продаже вакцинам; примеры типичных инструкций приводятся ниже.

Инактивированная вакцина должна вводиться двумя дозами с интервалом в 2–4 недели между введениями доз. Рекомендуется проводить ежегодную ревакцинацию.

Необходимо развести вакцину в физиологическом растворе и незамедлительно ее использовать. Многодозовые флаконы с используемой вакциной хранятся на льду. Любая вакцина, не использованная в течение 4 часов после разведения в физиологическом растворе, должна быть списана и утилизирована безопасным путем. Животные, возраст которых превышает 3 месяца, прививаются подкожно, путем введения единственной дозы вакцины в шейно-воротниковую зону. Рекомендуется проводить ежегодную ревакцинацию.

Инструкции по производству ветеринарных вакцин приведены в главе 1.1.8 *Принципы производства ветеринарных вакцин*. Инструкции, приведенные ниже и в главе 1.1.8, носят общий характер и могут быть дополнены национальными и региональными требованиями.

2. План производства и минимальные требования к вакцинам

2.1. Характеристики исходных вакцинных вирусов

Общие требования к исходным вакцинным вирусам и допустимые способы пассирования при производстве вакцин описаны в главе 1.1.8. Соответствующие посевные серии должны храниться при температуре -70°C в лиофилизированном состоянии.

2.1.1. Биологические характеристики исходного вакцинного вируса

Штамм ТС-83 вакцины вируса ВЭЛ получен из штамма выделенного в 1944 году эпизоотического вируса, которым был заражен осел из Тринидада (вариант I-AB). Этот штамм был получен путем серийного пассажа штамма вируса осла из Тринидада в клетки сердца эмбрионов морских свинок. Данный штамм является безопасным и иммуногенным при соблюдении установленных уровней пассажа и способствует выработке защитного иммунитета у вакцинированных представителей семейства лошадиных, хотя в некоторых случаях могут возникать нежелательные реакции. Изначально данная вакцина разрабатывалась с целью вакцинирования персонала, участвующего в исследованиях вируса ВЭЛ, сопряженных с высоким риском заражения.

2.1.2. Критерии качества (стерильность, чистота, отсутствие посторонних веществ)

Исходный вакцинный вирус (ИВВ) должен проходить обязательную проверку на чистоту, идентичность и отсутствие посторонних веществ перед использованием его в производстве вакцины. ИВВ не должен содержать бактерий, грибов и микоплазмы. ИВВ культивируется на линии клеток Веро и эмбриональных клетках лошадиных с подтверждением методом флюоресцирующих антител с целью демонстрации отсутствия герпесвируса лошадей, аденовируса лошадей, вируса артериита лошадей, вируса овечьей диареи, реовируса, вируса бешенства и посторонних веществ. Также ИВВ не должен содержать инородных вирусов цитопатического действия (ЦПД) и гемадсорбции на клеточных культурах.

2.1.3. Валидация в качестве вакцинного штамма

При испытании ИВВ на иммуногенность при самом высоком уровне пассажа, направленного на производство вакцины, с помощью теста на эффективность вакцинации / серологического теста, проводимого на морских свинках, должна проверяться эффективность (защитного действия).

2.1.4. Экстренная процедура промежуточного допуска нового исходного вакцинного вируса (ИВВ) в случаях эпизоотического характера инфекции (например, в случае наличия патогенов со множеством серотипов, таких как вирус синего языка овец)

В экстренных эпизоотических ситуациях процедура промежуточного допуска нового штамма может быть основана на анализе риска потенциального загрязнения антигена, получаемого из нового ИВВ, посторонними веществами. В данной оценке риска необходимо принимать во внимание характеристики процесса, включая характер и концентрацию инактиванта для инактивированных вакцин, перед принятием решения о допуске нового продукта к досрочному производству вакцины. Однако препараты вирулентного эпизоотического вируса ВЭЛ, обработанного формалином, никогда не должны вводиться в организм представителей семейства лошадиных. Остаточный вирулентный вирус может сохраняться после обработки формалином и может стать причиной развития тяжелого заболевания. Вспышки заболевания ВЭЛ при использовании таких препаратов были зафиксированы в Центральной и Южной Америке (Walton, 1981; Weaver *et al.*, 1999).

2.2. Методы производства

2.2.1. Процедура производства

ИВВ должен выращиваться в клеточных линиях, способствующих росту вируса ВЭЛ. Дополнительные инструкции по приготовлению и испытанию клеток исходного вакцинного вируса см. в главе 1.1.8. Клеточные линии не должны содержать посторонних веществ, вирусов, бактерий, грибов и микоплазмы. Объем размножения вируса не должен превышать пяти пассажей из ИВВ, если защита животного-носителя вируса не подтверждается для других (последующих) пассажей.

Осуществляется посев чувствительной клеточной линии в соответствующие пробирки. Минимальная питательная среда, дополненная сывороткой крови эмбриона коров (СЭК), может использоваться в качестве среды для производства вакцины. Инкубация происходит при температуре 37 °С.

Культуры клеток прививаются непосредственно действующим вирусом ВЭЛ, который вводится, как правило, посредством 1 – 4 пассажей из ИВВ. Инкубация зараженных прививкой культур происходит в течение 1–3 дней перед сбором среды для культивирования. В процессе инкубации осуществляется ежедневное исследование культур на предмет их возможного загрязнения веществами цитопатического действия и бактериального загрязнения.

Штамм ТС-83 вакцины против вируса ВЭЛ может быть химически инактивирован с помощью формалина и смешан с соответствующим адьювантом. Определение продолжительности периода инактивации основано на демонстрации кинетики инактивации.

В качестве консервантов используются раствор тимеросала в пропорции 1/1000 и антибиотики (неомицин, полимиксин, амфотерицин В и гентамицин).

2.2.2. Требования к ингредиентам

Все ингредиенты, используемые в производстве вакцины против ВЭЛ, должны быть определены в утвержденных производственных протоколах и должны быть согласованы по различным сериям. Общие инструкции по использованию ингредиентов животного происхождения см. в главе 1.1.8. Ингредиенты животного происхождения должны поставляться из стран, в которых существует пренебрежительно малый риск передачи спонгиозных энцефалопатий (СЭП).

2.2.3. Методы контроля в процессе производства

Производимые серии вакцин должны ежедневно проверяться на наличие возможных цитопатических изменений. После сбора вирусная суспензия должна испытываться на наличие микробных загрязнителей. Производимые серии вакцины против ВЭЛ должны титрироваться в культуре клеток тканей перед их инактивацией с целью стандартизации продукции. Концентрация серий вакцины с низким титром может быть повышена, или такие серии вакцины могут быть смешаны с сериями с высоким титром для достижения корректного титра.

Инактивированные партии вакцины против ВЭЛ должны испытываться на полноту инактивации на цыплятах в возрасте 6-12 часов.

2.2.4. Финальные испытания серий продукции

i) Стерильность

Образцы инактивированных и живых вакцин проверяются на предмет бактериального и грибкового загрязнения. Объем среды, используемой в испытаниях, должен быть достаточным для нейтрализации любых бактериостатических и фунгистатических эффектов консервантов, используемых в производстве продукта. Для проведения испытаний на наличие бактерий используется десять пробирок, каждая из которых содержит минимум 120 мл казеин-соевой питательной среды, заражаемой 0,2 мл из десяти образцов препарата в окончательной упаковке. Инкубация в десяти пробирках происходит при температуре 30–35°C в течение 14 дней при параллельном контроле роста бактерий. Для проведения испытаний на наличие грибов также используются десять пробирок, каждая из которых содержит минимум 40 мл казеин-соевой питательной среды, заражаемой 0,2 мл из десяти образцов препарата в окончательной упаковке. Инкубация в пробирках происходит при температуре 20–25°C в течение 14 дней при параллельном контроле роста грибов. В отдельных странах могут действовать другие требования.

ii) Идентичность

Испытания отдельных серий (партий) продукции на идентичность должны проводиться в том случае, если испытания на эффективность (действенность) партий, такие как титрование культур клеток тканей живых вирусных вакцин, в достаточной мере не подтверждают идентичность действующего вещества вакцины. Испытания на идентичность могут включать в себя метод флюоресцирующих антител или испытания на нейтрализацию сыворотки.

iii) Безопасность

Испытания на безопасность серий продукции с целью подтверждения факта инактивации вируса ВЭЛ проводятся на цыплятах в возрасте от 6 до 12 часов. Десяти цыплятам подкожно вводится 0,5 мл продукции, после чего в течение 10 дней над ними осуществляется ежедневное наблюдение. В случае выявления нежелательных реакций партия отбраковывается.

iv) Эффективность (действенность) серии продукции

Испытания на эффективность (действенность) инактивированной вакцины описаны в главе 2.5.5, за исключением случаев, когда допустимый титр антител у зараженных прививкой морских свинок составляет $\geq 1/4$.

2.3. Требования, касающиеся получения разрешения / регистрации / лицензирования

2.3.1. Процесс производства

В случае необходимости регистрации вакцины все необходимые сведения, касающиеся производства вакцины и контроля качества (см. разделы С.2.1 и С.2.2), должны представляться уполномоченным органам. Такая информация должна быть представлена по трем последовательно выпущенным сериям (партиям) вакцины объемом не меньше 1/3 объема стандартной промышленной серии.

Контроль в процессе производства является частью производственного процесса.

2.3.2. Требования относительно безопасности

Конечный состав инактивированной вакцины должен проверяться на ограниченном числе целевых животных перед проведением полевых исследований более широкого масштаба. Конечный состав вакцины не должен вызывать нежелательных реакций.

Полевые исследования на безопасность должны проводиться до приема и окончательного утверждения любой вакцины. Как правило, во время испытаний используется две серии вакцины, которые испытываются в трех различных географических зонах в условиях, характерных для животноводческих хозяйств, не менее чем на 600 животных. Вакцина должна вводиться в соответствии с рекомендациями, изложенными на этикетке (включая ревакцинирующие дозы) и должна содержать максимальное допустимое количество антигенов ВЭЛ. (Если максимальное количество антигенов не указано, считается, что такие серии продукции обладают стандартной постмаркетинговой эффективностью, характерной для данной вакцины.) Возраст примерно одной трети животных должен соответствовать минимуму, рекомендованному для проведения вакцинации.

i) Меры предосторожности (факторы риска)

Вакцина должна быть идентифицирована как безвредная или патогенная для вакцинируемых. Производителем должны излагаться необходимые предупреждения и меры предосторожности, а также предупреждение о необходимости консультации с врачом в случае случайного введения вакцины в собственный организм (за исключением адьювантов, вакцин на основе масляной эмульсии, консервантов и т. д.); соответствующие предупреждения должны быть изложены на этикетке / брошюре продукции, что позволит вакцинируемому быть уведомленным о любом риске.

2.3.3. Требования относительно эффективности вакцины

При регистрации выводимой на рынок вакцины серия или несколько серий соответствующей продукции, произведенной стандартным методом и содержащей минимальное количество антигенов, действенность вакцины, обеспечивающая

эффективность (защиты), должна подтверждаться посредством опытов по вакцинации морских свинок / серологических тестов на эффективность; каждая последующая выводимая на рынок серии продукции должна проверяться перед ее выпуском с целью подтверждения соответствия ее эффективности значениям эффективности (действенности) других серий, продемонстрированных в результате ранее проведенных испытаний.

2.3.4. Вакцины, позволяющие реализовывать стратегию ОИВЖ (обнаружения инфекции у вакцинированных животных)

Вакцинация рекомендована только для лошадей, находящихся в зонах с ВЭЛ-положительными результатами тестов. У вакцинированных лошадей может развиваться серологический титр, который может оказывать влияние на возможность экспортирования лошадей.

2.3.5. Продолжительность иммунитета

Всесторонние комплексные исследования на продолжительность иммунитета не применяются. При использовании инактивированной вакцины рекомендуется проведение ежегодной ревакцинации. Жеребята, привитые в возрасте до 1 года, должны быть повторно привиты перед следующим сезоном вспышек заболевания. Проведение ревакцинации при использовании аттенуированной вакцины не рекомендуется.

2.3.6. Стабильность

Лиофилизированная вакцина сохраняет свою стабильность и иммуногенность в течение 2 лет в случае ее хранения в холодильнике при температуре 2–7 °С. По истечении 2 лет вакцина должна быть списана и утилизирована.

ЛИТЕРАТУРА

AMERICAN COMMITTEE ON ARTHROPOD-BORNE VIRUSES (ACAV), SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY SAFETY (1980). Laboratory safety for arboviruses and certain viruses of vertebrates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 29, 1359–1381.

BERGE T.O., BANKS I.S. & TIGERTT W.D. (1961). Attenuation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by in vitro cultivation in guinea pig heart cells. *Am. J. Hyg.*, 73, 209–218.

CALISHER C.H., SHOPE R.E., BRANDT W., CASALS J., KARABATSOS N., MURPHY F.A., TESH R.B. & WIEBE M.E. (1980). Proposed antigenic classification of registered arboviruses. I. Togavirus Alphavirus. *Intervirology*, 14, 229–232.

MONATH T.P. & TRENT D.W. (1981). Togaviral diseases of domestic animals. *Comp. Diagn. Vir. Dis.*, 4, 331–440.

PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (1972). Venezuelan encephalitis. In: Proceedings of a Workshop/ Symposium on Venezuelan Encephalitis Virus. Sci. Publ. No. 243, Washington DC, USA, 416 pp.

POWERS A.M., OBERSTE M.S., BRAULT A.C., RICO-HESS R., SCHMURA S.M., SMITH J.F., KANG W, SWEENEY W.P. & WEAVER S.C. (1997). Repeated emergence of epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis from a single genotype of enzootic subtype ID virus. *J. Virol.*, 71, 6697–6705.

UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (2009). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/index.htm>.

WALTON T.E. (1981). Chapter 24. Equine encephalomyelitis. In: Virus Diseases of Food Animals. A World Geography of Epidemiology and Control. Disease Monographs, Vol. 2, Gibbs E.P.J., ed. Academic Press, New York, USA, 587–625.

WALTON T.E., ALVAREZ O. Jr, BUCKWALTER R.M. & JOHNSON K.M. (1973). Experimental infection of horses with enzootic and epizootic strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. J. Infect. Dis., 128, 271–282.

WALTON T.E. & GRAYSON M.A. (1989). Chapter 46. Venezuelan equine encephalomyelitis. In: The Arboviruses: Epidemiology and Ecology, Vol. 4, Monath T.P., ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 203–231.

WEAVER S.C., FERRO C., BARREREA R. BOSCHELL J. & NAVARRO J.C. (2004) Venezuelan equine encephalitis. Annu. Rev. Entomol., 49, 141–174.

WEAVER S.C., PFEFFER M., MARRIOTT K., KANG W. & KINNEY R.M. (1999) Genetic evidence for the origins of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB outbreaks. Am. J. Trop. Med. Hyg., 60, 441–448.

WEAVER S.C., WINEGAR R., MANGER I.D. & FORRESTER N.L. (2012). Alphaviruses: Population genetics and determinants of emergence. Antiviral Res., 94, 242–257.

*

* *

ВНИМАНИЕ: Существуют Справочные лаборатории МЭБ по диагностике венесуэльского энцефаломиелита лошадей (см. таблицу, приведенную в части 4 настоящего *Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных* или посетите веб-сайт МЭБ для получения актуального списка лабораторий: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

Для получения более подробной информации, касающейся тестов и реагентов для диагностики венесуэльского энцефаломиелита лошадей, просим Вас обращаться в Справочные лаборатории МЭБ.