

КОНТРОЛЬ ВИРУСНЫХ ВАКЦИН НА БИОФАБРИКЕ

- Внутренний биологический контроль
- Государственный контроль и приёмка партии биопрепарата Государственным контролёром ВГНКИ

ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В КАРАНТИННОЙ ЗОНЕ

1. Осмотр серии биопрепарата, определение размера серии
2. Контроль предупреждающих знаков и качества внешних этикеток.
3. Отбор проб биопрепарата согласно Технических условий (ТУ).
4. Контроль качества этикеток на флаконах биопрепарата по ТУ.
5. Контроль герметичности упаковка флаконов.
6. Транспортировка в лабораторию и изоляция проб (50 %) для длительного хранения.



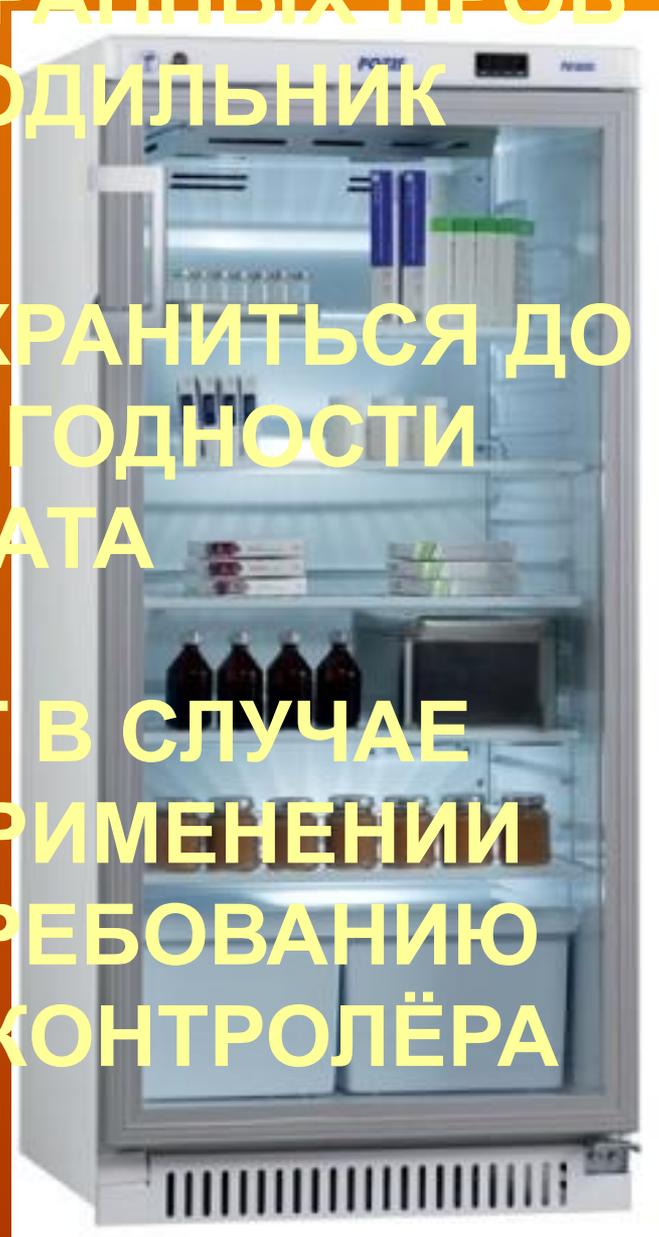
ПОДГОТОВКА К ПРИЁМКЕ БИОПРЕПАРАТА В ЛАБОРАТОРИИ ПРЕДПРИЯТИЯ

1. Подготовка оборудования для контроля влажности, растворимости (для сухих), цвета, консистенции и др.;
2. Подготовка питательных сред для контроля стерильности;
3. Подготовка животных (птиц) для контроля безвредности и иммуногенности;
4. Подготовка эмбрионов и культур клеток для контроля биологической активности (вакцин) и стерильности в отношении вирусов (сывороток и др.);
5. Подготовка иммунологических тест-систем для контроля антигенов, сывороток и их компонентов.

**ПОЛОВИНУ (50 %) ОТОБРАННЫХ ПРОБ
ПОМЕЩАЮТ В ХОЛОДИЛЬНИК**

**ЭТИ ПРОБЫ ДОЛЖНЫ ХРАНИТЬСЯ ДО
ИСТЕЧЕНИЯ СРОКА ГОДНОСТИ
БИОПРЕПАРАТА**

**ПРОБЫ ИССЛЕДУЮТ В СЛУЧАЕ
ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ
БИОПРЕПАРАТА ПО ТРЕБОВАНИЮ
ГОСУДАРСТВЕННОГО КОНТРОЛЁРА
ВГНКИ**



КОНТРОЛЬ ВЛАЖНОСТИ, РАСТВОРИМОСТИ, ЦВЕТА, КОНСИСТЕНЦИИ БИОПРЕПАРАТА

1. Влажность определяют по ТУ или общепринятым методом высушивания. Препарат вскрывают, взвешивают на аналитических весах, помещают в сушильный шкаф и высушивают до постоянной массы (определяется методом периодического взвешивания). Разность в массе нативного и высушенного препарата соответствует его влажности.
2. Растворимость определяют путем растворения водой (или разбавителем вакцины) согласно Наставлению по применению препарата. Наличие осадка или флотированных компонентов определяют методом центрифугирования при 5000 оборотах в минуту.



КОНТРОЛЬ ВЛАЖНОСТИ, РАСТВОРИМОСТИ, ЦВЕТА, КОНСИСТЕНЦИИ БИОПРЕПАРАТА

1. Цвет биопрепарата определяют по таблицам цветности (цветные и чёрно-белые таблицы).
2. Консистенцию биопрепарата определяют до растворения (для сухих) и после растворения. Часто пользуются с этой целью контролем вязкости растворов (суспензии) биопрепаратов, согласно ТУ.



КОНТРОЛЬ СТЕРИЛЬНОСТИ БИОПРЕПАРАТА (В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ И ГРИБОВ)

- 1. Посев растворённого биопрепарата в объёме $0,2 \text{ см}^3$ осуществляют на следующие среды и культивируют:**
 - 1. МПБ в пробирках, культивируют 24 часа при $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$.**
 - 2. Скошенный МПА в пробирках, культивируют 24 часа при $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$.**
 - 3. Среда Китта — Тароцци в пробирках, культивируют 24 часа при $37,5 \text{ }^\circ\text{C}$.**
 - 4. Среда Сабуро (скошенный агар) в пробирках, культивируют 240 часов при $22 \text{ }^\circ\text{C}$.**

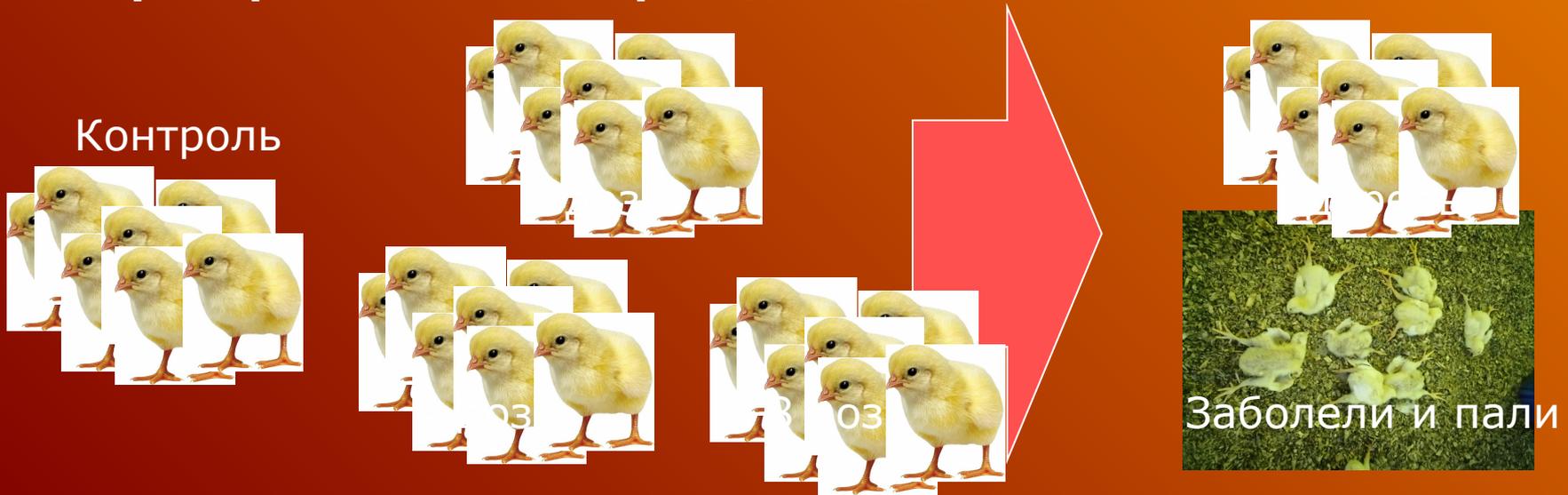
Учёт результатов:

На всех питательных средах не должно быть роста бактерий и грибов

КОНТРОЛЬ БЕЗВРЕДНОСТИ ВАКЦИН

1. Готовим животных (не менее 100 гол.) из благополучного хозяйства;
2. Контрольных животных содержим отдельно (10 %, но не менее трёх). Вводим физиологический раствор.
3. Подопытным животным вводим вакцину согласно Наставлению по применению в количестве 2, 4 и 8 иммунизирующих доз.

Учёт результатов. Если хоть одно животное в группах 2 и 4 (дозы) заболеют, то повторяем исследование на удвоенном количестве животных. Если все здоровы, то препарат считается пригодным для использования.



ПОДГОТОВКА КОНТРОЛЯ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИН

1. Готовим животных (не менее 100 гол.) из благополучного хозяйства. По принципу аналогов разделяем их на 6 групп;
2. Контрольных животных (1 группа) содержим отдельно (10 %, но не менее трёх). Вводим физиологический раствор.
3. Подопытным животным вводим контрольный штамм вируса (по ТУ) в количестве Ig6; Ig5; Ig4; Ig3; Ig2.

Учёт результатов. Если хоть одно животное в группах 2 и 4 (дозы) заболеют, то повторяем исследование на удвоенном количестве животных. Если все здоровы, то препарат считается пригодным для использования.

Таблица. Определение вирулентности вируса (N), применяемого для заражения животных при контроле вакцины

№ п/п	Доза (lg)	No	Nb/No	Результат
1	6	20	20/20	100 %
2	5	20	20/20	100 %
3	4	20	12/20	60 %
4	3	20	6/20	30 %
5	2	20	0/20	0 %
Контроль	0	20	0/20	0 %

Таким образом, рабочая доза ($ЛД_{50}$) контрольного штамма вируса N составляет Ig3,5.

Примечание: Nb – количество выживших животных; No – количество животных в группе.

КОНТРОЛЬ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИН

1. Готовим животных (не менее 100 гол.) из благополучного хозяйства;
2. Контрольных животных содержим отдельно (10 %, но не менее трёх). Вводим физиологический раствор (1 группа – чистый контроль).
3. Вторую контрольную группу животных содержим отдельно (10 %, но не менее трёх). Не вакцинируем - зараженный контроль.
4. Подопытным животным вводим вакцину согласно Наставлению по применению в количестве 1 дозы на голову.
5. Через 48 – 72 часа (по ТУ) заражаем всех животных (и контрольных и подопытных) контрольным штаммом вируса в дозе 2ЛД_{50} или 4ЛД_{50} (по ТУ).

Учёт результатов. Все животные в группе чистого контроля и все вакцинированные животные в группах должны остаться живы и здоровы.

Все животные в группе заражённого контроля должны пасть или интенсивно заболеть с характерными признаками болезни.

Если этого не произошло, то контроль повторяют на удвоенном количестве животных. Если и повторно не получен положительный результат, то партию вакцины бракуют.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ

1. Готовим эмбрионы из благополучного хозяйства или культуры клеток (не менее 100 матрацев);
2. Контрольные эмбрионы инкубируем отдельно (10 %, но не менее трёх). Вводим физиологический раствор (1 группа – чистый контроль).
3. Делаем разведение свежеприготовленной вакцины (производственного штамма) в пробирках в соотношении 1:10.



Разведения : 10⁻¹ 10⁻² 10⁻³ 10⁻⁴ 10⁻⁵ 10⁻⁶ 10⁻⁷

Разведения в lg: lg-1 lg-2 lg-3 lg-4 lg-5 lg-6 lg-7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ

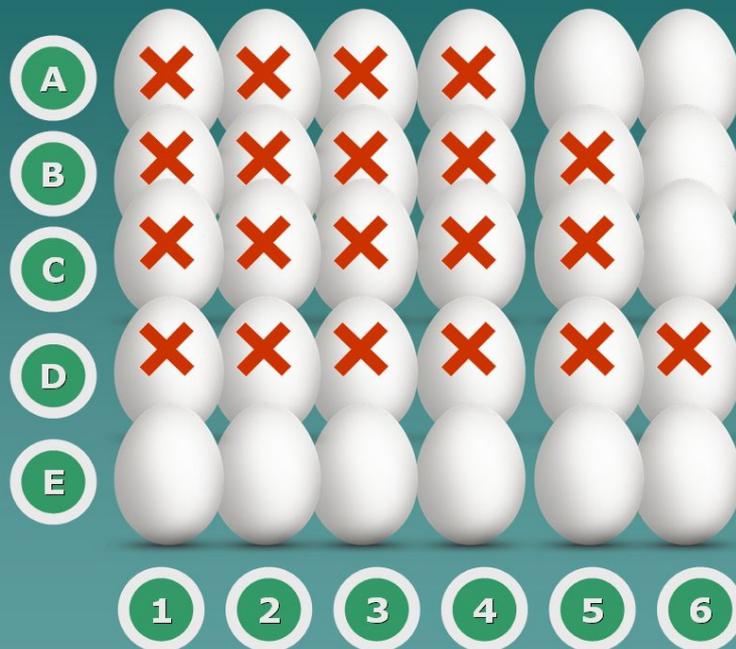
1. Эмбрионы (флоконы с культурами клеток) разбиваем на группы и заражаем из пробирок с разведениями вакцины.
2. Заражение проводят в стерильных условиях в ХАП, на ХАО, реже в желточный мешок.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ

- Учёт результатов проводят через 48 часов методом овоскопии, вскрытия и анализа «живучести» и контроля патологических изменений. Например:

ТИТРАЦИЯ ВИРУСА НА КЭ



Проводим овоскопию,
учитываем замерших:

1. Разведение 10^{-1} ;
2. Разведение 10^{-2} ;
3. Разведение 10^{-3} ;
4. Разведение 10^{-4} ;
5. Разведение 10^{-5} ;
6. Разведение 10^{-6} ;
7. Разведение 10^{-7} ;
8. Чистый контроль.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ

1. Данные о гибели эмбрионов в группах заносят в таблицу и рассчитывают инфекционный титр вируса в вакцине.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОГО ТИТРА

Титрация вируса инфекционного ларинготрахеита ИЛТ в 0,2 см³ (мл)

Разведение вируса	Кол-во к.э.	Фактические данные		Кумулятивные данные		Пораж. Зараж.	% инфекционности
		непораж	пораж	непораж	пораж		
10 ⁻¹	4	0	4	0	20	$\frac{20}{20}$	100
10 ⁻²	4	0	4	0	16	$\frac{16}{16}$	100
10 ⁻³	4	0	4	0	12	$\frac{12}{12}$	100
10 ⁻⁴	4	0	4	0	8	$\frac{8}{8}$	100
10 ⁻⁵	4	1	3	1	4	$\frac{4}{5}$	80
10 ⁻⁶	4	3	1	4	1	$\frac{1}{5}$	20
10 ⁻⁷	4	4	0	8	0	0	0

Это В (b)

Это В (b)

Это а

$$\text{Инфекционная активность (lg ЭИД}_{50/0,2\text{мл}}) = \lg B - \frac{b-50}{b-a} = -5 - \frac{80-50}{80-20} = -5.5 (\text{ЭИД}_{50/0,2\text{мл}})$$

То..есть, инфекционная активность вакцины = lg 5.5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ

- Практический расчет инфекционной активности вакцины.
 - Поскольку в работе учитывается только целая часть числа активности, то нет необходимости в точном расчете долей логарифма.



Таким образом, активность вакцины более $Ig5$, но менее $Ig6$. Просто берём среднее, т.е. $Ig5.5$. При расчете дозы вакцины поллогарифма (на практике) не учитывается и в расчет принимается активность $Ig5$ ЭИД_{50/0,2мл}

