ВАКЦИНА ЖИВА ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ІНФЕКЦІЙНОГО БРОНХІТУ ПТИЦІ

Vaccinum bronchitidis infectivae aviariae vivum

AVIAN INFECTIOUS BRONCHIYIS VACCINE (LIVE)

1. ВИЗНАЧЕННЯ

Вакцина жива для профілактики інфекційного бронхіту птиці — препарат, виготовлений з одного або більше штамів придатних типів вірусу інфекційного бронхіту птиці. Ця монографія поширюється на вакцини, призначені для активної імунізації курей з метою профілактики респіраторних захворювань, викликаних вірусом інфекційного бронхіту птиці.

2. ВИРОБНИЦТВО

2.1. ВИРОБНИЦТВО ВАКЦИНИ

Вакцинний вірус культивують у курячих ембріонах або культурах клітин.

2.2. СИСТЕМА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ВІРУСУ

2.2.1. **Курячі ембріони.** Якщо вакцинний вірус культивують у курячих ембріонах, то вони мають бути отримані зі стад курей, які вільні від патогенної мікрофлори (ВПФ) (*5.2.2*).

2.2.2. **Культури клітин.** Якщо вакцинний вірус культивують у культурах клітин, вони мають відповідати вимогам до культур клітин, які використовують у виробництві вакцин для застосування у ветеринарній медицині (*5.2.4*).

2.3. ПОСІВНІ СЕРІЇ

2.3.1. **Сторонні агенти.** Головна посівна серія має відповідати вимогам випробування на відсутність сторонніх агентів у посівних серіях (*2.6.24*). У випробуваннях головної посівної серії можуть бути використані мікроорганізми, що були отримані за допомогою не більше 5 пасажів від головної посівної серії на момент початку випробування.

2.4. ВИБІР ВАКЦИННОГО ВІРУСУ

Вакцинний вірус має задовольняти вимоги щодо безпечності (*5.2.6*) та ефективності (*5.2.7*) для курчат, яким призначена вакцина.

Під час підтвердження безпечності та ефективності можуть бути використані наведені нижче випробування за індексом респіраторної вірулентності (розділ 2.4.1), безпечності (розділ 2.4.2), посилення вірулентності (розділ 2.4.3) та імуногенності (розділ 2.4.4).

2.4.1. **Безпечність**

2.4.1.1. *Безпечність для респіраторного тракту та нирок*. Випробування проводять на курчатах не старших мінімального рекомендованого для вакцинації віку. Використовують вакцинний вірус з найменш атенуйованого рівня пасажу, що знаходиться між головною посівною серією та серією вакцини.

Використовують не менше 15 курчат із одного ВПФ-стада (*5.2.2*). Кожному курчаті окулярно-назальним шляхом вводять кількість вакцинного вірусу, еквівалентну не менш ніж 10-разовому максимальному титру вірусу, що ймовірно містить одна доза вакцини. На кожну 5, 7 і 10-у добу після введення вірусу проводять евтаназію не менше 5 курчат та відбирають зразки трахеї та нирок. Зразки нирок фіксують для гістологічних досліджень. Дістають трахеї та готують 3 поперечних зрізи з верхньої частини, 4 з середньої та 3 із нижньої частини трахей кожної особини: якомога швидше і не пізніше 2 год після забору зразків та за допомогою мікроскопії з низьким збільшенням досліджують усі трахеальні експлантати на миготливу активність. Відзначають циліостаз за шкалою від 0 (100% миготлива активність) до 4 (відсутність миготливої активності, повний циліостаз) та обчислюють середнє значення циліостазу (максимальне значення для кожної трахеї може становити 40) для 5 курчат, які були піддані евтаназії на 5, 7 і 10-у добу випробування.

Випробування вважається непридатним, якщо більше 10 % курчат гине з нехарактерними для вакцинного вірусу симптомами.

Вакцинний вірус відповідає вимогам випробування, якщо:
- в жодного курчати не спостерігається явних клінічних ознак інфекційного бронхіту птиці або вони не гинуть з характерними для вакцинного вірусу симптомами;
- запальні ураження, що спостерігаються під час гістологічних досліджень нирок, мають не більш ніж середній ступінь важкості.

З урахуванням отриманого середнього значення циліостазу та користі, очікуваної від використання вакцини, проводять аналіз «користь/ризик».

2.4.1.2. *Безпечність для репродуктивних органів*. Якщо в інструкції для застосування зазначено чи мається на увазі, що можна застосовувати вакцину для курчат менше 3-тижневого віку, які потім утримуються до статевозрілості, необхідно продемонструвати, що

ПРОЕКТ

вакцина не завдає шкоди розвитку репродуктивної системи у разі застосування для курчат у мінімальному рекомендованому для вакцинації віці.

Може бути проведене таке випробування: використовують не менше 40 курчат із ВПФ-стад (*5.2.2*) не старше мінімального рекомендованого для вакцинації віку; використовують вакцинний вірус з найменш атенуйованого рівня пасажу, що знаходиться між головною посівною серією та серією вакцини. Кожному курчаті рекомендованим шляхом вводять кількість вакцинного вірусу, еквівалентну не менше максимального титру вірусу, що ймовірно містить одна доза вакцини. Не раніше ніж за 10 тижнів після введення вірусу проводять евтаназію курчат і макроскопічне дослідження яйцепроводу. Вакцинний вірус відповідає вимогам випробування, якщо аномальні ознаки виявляються не більш ніж у 5 % яйцепроводів.

2.4.2. **Посилення вірулентності.** Випробування проводять відповідно до статті (*5.2.6*), використовуючи 2-тижневих курчат із ВПФ-стад (*5.2.2*). Якщо властивості вакцинного вірусу дозволяють провести 5 послідовних пасажів через 5 груп шляхом природного розповсюдження, то можна використовувати цей метод; в іншому разі проводять пасажі описаним нижче способом.

Кожному курчаті першої групи у вигляді очних крапель вводять кількість вакцинного вірусу, що дозволить виділити вірус для подальших описаних нижче пасажів. Через 2–4 доби після введення вакцинного вірусу готують суспензію зі слизу трахеї кожного курчати та об'єднують ці зразки. 0.05 мл отриманого об'єднаного зразка у вигляді очних крапель вводять кожному курчаті наступної групи. Аналогічні пасажі повторюють не менше 4 разів, контролюючи наявність вірусу в кожному пасажі. Якщо вірус не виявляють на рівні пасажу, повторюють пасажування, використовуючи не менше 10 курчат. Проводять випробування на безпечність для респіраторного тракту та нирок (розділ 2.4.1.1), використовуючи матеріал для першого пасажу та вірус з останнього рівня пасажу. Вакцинний вірус вводять передбачуваним найменш безпечним шляхом застосування.

Вакцинний вірус відповідає вимогам випробування, якщо не спостерігається жодних ознак посилення вірулентності вірусу з останнього рівня пасажу порівнюючи з матеріалом, використаним для першого пасажу. Вакцинний вірус також відповідає вимогам випробування, якщо відсутня реплікація після пасажу на 5 тваринах та наступного повторного пасажу на 10 тваринах.

2.4.3. **Імуногенність.** Підтверджується імуногенність для кожного штаму вірусу, що входить до складу вакцини. Випробування проводять для кожного рекомендованого для вакцинації методу та шляху введення, використовуючи в кожному випадку курчат із ВПФ-стад (*5.2.2*) не старше мінімального рекомендованого для вакцинації віку. Кількість вакцинного вірусу для введення кожному курчаті має бути не більше мінімального титру вірусу, зазначеного на етикетці, та вірус має знаходитись на найбільш атенуйованому рівні пасажу, який буде присутній у серії вакцини.

Будь-яке або обидва наведені нижче випробування можуть бути використані для підтвердження імуногенності.

2.4.3.1. *Миготлива активність трахеальних експлантатів.* Використовують не менше 25 курчат з одного джерела та ВПФ-стада (*5.2.2*). Рекомендованим шляхом вакцинують не менше 20 курчат. Не менше 5 курчат залишають як контроль. Через 21 добу кожне курча заражають введенням у вигляді очних крапель достатньої кількості вірулентного інфекційного пташиного вірусу бронхіту того самого типу, що і випробовуваний вакцинний вірус. Через 4–7 діб після зараження курчат піддають евтаназії та готують 3 поперечних зрізи з верхньої частини, 4 із середньої та 3 із нижньої частини трахеї кожного курчати. Якомога швидше і не пізніше 2 год після забору зразків усі трахеальні експлантати досліджують за допомогою мікроскопії з низьким збільшенням на миготливу активність. Для даної секції трахеї миготлива активність вважається нормальною, якщо не менш ніж у 50 % внутрішніх кілець спостерігається сильний циліальний рух. Вважають, що курчата не заражені, якщо у 9 з 10 кілець спостерігається нормальна миготлива активність.

Випробування вважається непридатним, якщо:
- менше ніж у 80 % контрольних курчат спостерігається зупинка і значне зниження миготливої активності
- та/або в період між вакцинаціями та зараженням більше 10 % вакцинованих або контрольних курчат проявляють аномальні клінічні ознаки або гинуть з нехарактерними для вакцинного вірусу симптомами.

Вакцинний вірус відповідає вимогам випробування, якщо не менше ніж у 80 % вакцинованих курчат спостерігається нормальна миготлива активність.

2.4.3.2. *Виділення вірусу з трахеальних мазків.* Використовують не менше 30 курчат з одного джерела та ВПФ-стада (*5.2.2*). Рекомендованим шляхом вакцинують не менше 20 курчат. Не менше 10 курчат залишають як контроль. Через 21 добу кожне курча піддають зараженню введенням у вигляді очних крапель достатньої кількості вірулентного вірусу інфекційного бронхіту птиці того самого типу, що і випробовуваний вакцинний вірус. Через 4–7 діб після зараження курчат піддають евтаназії і готують суспензії з мазків трахеального слизу кожного курчати. 0.2 мл отриманої суспензії вводять в алантоїсну порожнину кожного з 5 запліднених яєць із 9–11-

ПРОЕКТ

добовими курячими ембріонами з ВПФ-стад (*5.2.2*). Після інокуляції яйця інкубують протягом 6–8 діб. Яйця, які за 1 добу після інокуляції вже не містять живих ембріонів, видаляють і вважають за випадок неспецифічної загибелі. Відмічають кількість інших яєць з мертвими ембріонами та через 6–8 діб інкубації досліджують кожне яйце, що містить живий ембріон, на характерні для інфекційного бронхіту птиці ураження. Проводять аналогічні 3 наступні пасажі. Якщо хоч один ембріон у партії яєць гине або виявляє характерні ураження, вважається, що інокулят є носієм вірусу інфекційного бронхіту птиці. Результат випробування партії яєць вважається негативним, якщо випробовуваний інокулят не є носієм вірусу.

Випробування вважається непридатним, якщо:
– патогенний вірус повторно виділяється менше ніж із 80 % контрольних курчат;
– та/або в період між вакцинаціями та зараженням більше 10 % вакцинованих або контрольних курчат проявляють аномальні клінічні ознаки або гинуть з нехарактерними для вакцинного вірусу симптомами;
– та/або більше 1 яйця в групі видаляють внаслідок неспецифічної загибелі ембріона.

Вакцинний вірус відповідає вимогам випробування, якщо патогенний вірус повторно виділяється не більше ніж із 20 % вакцинованих курчат.

3. ВИПРОБУВАННЯ СЕРІЇ

3.1. **Ідентифікація.**

3.1.1. *Вакцини, що містять один тип вірусу.* Вакцина, розчинена за потреби та змішана зі специфічною імуносироваткою даного типу вірусу інфекційного бронхіту птиці, не викликає зараження курячих ембріонів із ВПФ-стад (*5.2.2*) або чутливих культур клітин (*5.2.4*), в які її інокулюють.

3.1.2. *Вакцини, що містять більше одного типу вірусу.* Вакцина, розчинена за потреби та змішана зі специфічною імуносироваткою кожного штаму вірусу інфекційного бронхіту птиці даної вакцини, крім штаму, що ідентифікують, не викликає зараження курячих ембріонів із ВПФ-стад (*5.2.2*) або чутливих культур клітин (*5.2.4*), в які її інокулюють; у разі подальшого змішування з імуносироваткою, специфічною для штаму, що ідентифікують, зараження не спостерігається.

3.2. **Бактерії та гриби**. Вакцини для застосування у вигляді ін'єкцій мають відповідати вимогам випробування, наведеним в монографії «*Вакцини для застосування у ветеринарній медицині*».

Заморожені або ліофілізовані вакцини, вироблені із застосуванням курячих ембріонів і не призначені для ін'єкцій, мають відповідати вимогам випробування на стерильність, наведеним в загальній монографії *«Вакцини для застосування у ветеринарній медицині»*, або наведеного нижче випробування. Проводять кількісне визначення забруднення (контамінації) бактеріями та грибами; ідентифікують виявлені у вакцині мікроорганізми; вакцина не має містити патогенних мікроорганізмів і може містити не більше одного непатогенного мікроорганізму на одну дозу.

Будь-який розчинник, що постачається разом з вакциною для її відновлення, має відповідати вимогам випробування на стерильність, наведеним в загальній монографії *«Вакцини для застосування у ветеринарній медицині»*.

3.3. **Мікоплазми.** Вакцина має відповідати вимогам випробування на відсутність мікоплазм (*2.6.7*).

3.4. **Сторонні агенти.** Вакцина має відповідати вимогам випробування на відсутність сторонніх агентів у кінцевій серії вакцини (*2.6.25*).

3.5. **Титр вірусу.** Вакцинний вірус титрують, інокулюючи його в курячі ембріони з ВПФ-стад (*5.2.2*) або у придатні культури клітин (*5.2.4*). Якщо вакцина містять більше 1 штаму вірусу, титрують кожний штам, після нейтралізації специфічними імуносироватками інших штамів інфекційного бронхіту птиці. Вакцина відповідає вимогам випробування, якщо одна доза для кожного вакцинного вірусу містить не менше мінімального титру, зазначеного на етикетці.

3.6. **Активність.** Вакцина має відповідати вимогам одного з випробувань, наведених у розділі «Імуногенність» (2.4.3), у разі застосування відповідно до рекомендованих схеми, методу та шляху введення.

У випробуванні кожної серії вакцини за показником «Активність» немає потреби, якщо проведено випробування на репрезентативній серії вакцини з використанням дози вакцинації, що містить не більше мінімального титру вірусу, зазначеного на етикетці.

ПРОЕКТ