

Із розподілу рівнів реакцій, виміряних у всіх сироватках невакцинованої групи, визначають рівень максимальної реакції, яку можна очікувати у невакцинованої групи для даного конкретного випробування. Будь-яка відповідь вакцинованих тварин, що перевищує цей рівень, указує на сероконверсію.

Проводять придатне перетворення відсотка тварин, що проявляють сероконверсію в кожній групі (наприклад, пробіт-перетворення), й аналізують результати відповідно до моделі паралельних ліній для \log доза-відповідь. Визначають активність випробовуваного препарату відносно стандартного препарату.

Умови придатності. Результати випробування вважаються \blacktriangledown придатними \blacktriangleleft , якщо:

- ED_{50} для випробовуваної та стандартної вакцин знаходиться між найменшою та найбільшою дозою, отриманою тваринами;
- статистичний аналіз не виявляє значних відхилень від лінійності або паралельності;
- довірчий інтервал ($P = 0.95$) складає менше 33 % та не більше 300 % від установленної активності.

Вимоги до активності. Верхній довірчий інтервал ($P = 0.95$) установленної відносної активності складає не менше 1.0.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ *IN VITRO*

Проводять імунохімічне визначення (2.7.1) вмісту антигена з валідованими критеріями прийнятності відносно *in vivo* випробування.

Показано, що за придатні методи можна вважати радіоімуноаналіз (PIA, RIA) та імуноферментний аналіз (ІФА, ELISA), з використанням специфічних для індукуючих захисні епітопи HBsAg моноклональних антитіл. Використовують придатну кількість розведень випробовуваної вакцини та стандартного препарату та застосовують модель паралельних ліній для аналізу результатів, які можуть бути відповідним чином перетворені. Доступні комерційні набори для вимірювання HBsAg *in vitro*, і можлива їх адаптація для застосування в *in vitro* кількісному визначенні активності.

Компетентний уповноважений орган затверджує критерії прийнятності для даного стандартного препарату, виходячи з результатів валідації.

■

2.7.16. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВАКЦИНИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ КАШЛЮКУ (АЦЕЛЮЛЯРНОЇ)

За допомогою кількісного визначення вимірюють здатність вакцини для профілактики кашлюку (ацелюлярної) викликати (індукувати) утворення специфічних антитіл у мишей або мурчаків. Титри антитіл для кожного антигену визначають за допомогою придатного імунохімічного методу (2.7.1), такого як імуноферментний аналіз (ІФА, ELISA).

Результати кількісного визначення можуть бути виражені:

- або як відношення середнього геометричного титру (СГТ, GMT) антитіл, отриманих після введення випробовуваної вакцини до СГТ антитіл, отриманих після введення стандартної вакцини, випробовуваної паралельно (кількісне визначення відносної активності);
- або безпосередньо як СГТ антитіл, індукованих випробовуваною вакциною (кількісне визначення у одиницях середнього геометричного (СГО, GMU) або кількісне визначення СГО).

Для комбінацій, що містять компоненти кашлюку разом з дифтерійним та правцевим компонентами, серологічний аналіз у мурчаків може проводитись на тій самій групі тварин, що використовувались під час серологічного кількісного визначення вакцини для профілактики дифтерії (адсорбованої) (2.7.6) та правця (адсорбованої) (2.7.8), якщо підтверджено, що звичайні умови імунізації для всіх компонентів (наприклад, дози, тривалість) дійсні для комбінованих вакцин. Модель із використанням мурчаків дозволяє значно зменшити кількість необхідних тварин та повинна розглядатись кожним аналітиком під час випробування, яке відповідає положенню Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються у дослідних та інших наукових цілях.

Під час розробки методу А і В, наведених нижче, проводять випробування декількох розведень випробовуваної вакцини та стандартної вакцини або внутрішнього контролю (див. Глосарій), щоб визначити, які розведення є придатними. Після того, як розведення підтверджені як придатні для даної вакцини, рекомендується, відповідно до принципів 3R (Replacement, Reduction, Refinement), застосувати спрощену модель, таку як разове (одиничне) розведення як для випробовуваної вакцини, так і для стандартної вакцини або внутрішнього контролю. Така модель дозволяє аналітику визначити, чи є імуногенність випробовуваної вакцини задовільною.