

УДК 619: 615: 37. 012

ЛАБОРАТОРНЫЙ РАБОЧИЙ ЭТАЛОННЫЙ МАТЕРИАЛ В ОБЕСПЕЧЕНИИ И КОНТРОЛЕ КАЧЕСТВА ВИРУСВАКЦИНЫ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ**Скотникова Т.А., Неминущая Л.А., Токарик Э.Ф., Самуйленко А.Я., Еремец В.И.***ГНУ Всероссийский научно-исследовательский технологический институт биологической промышленности (ВНИТИБП),
Российская академия сельскохозяйственных наук, г. Щелково, Московская обл.*

Из практики отечественных и международных экспертиз предприятий на соответствие требованиям Правил GMP (ГОСТ Р 52249-2009 и GMP EC) известно, что контроль качества лекарственных средств (ЛС) должен основываться на принципах GLP [1]. На предприятиях, выпускающих ЛС, и в национальных центрах, осуществляющих надзор за качеством продукции, эти принципы должны быть реализованы в организации и работе контрольных лабораторий.

Главной задачей контрольной лаборатории является проведение тестирования проб различных материалов (сырье, упаковочный материал, промежуточный продукт, готовый продукт и т.п.) с целью принятия решения о соответствии или несоответствии их предъявляемым требованиям. Согласно требованиям GLP при тестировании любого материала (объекта) должен быть использован эталонный образец (образец для сравнения), который предварительно должен быть охарактеризован для получения статуса эталонного [2, 3]. В технических докладах ВОЗ, начиная с 1978 г., можно найти сведения о принципах приготовления и утверждения эталонных материалов биологических препаратов. В 1988 г. принципы были пересмотрены и приведены в соответствие с требованиями к биологическим препаратам [4, 5]. По рекомендациям ВОЗ лабораторный рабочий эталонный материал (ЛРЭМ) необходим для следующих целей:

- определение биологической активности при серийном производстве препаратов;
- испытание препарата, используемого в ветеринарной практике, в случае возникновения спорных ситуаций;
- испытание нового биологического препарата;
- сравнение результатов научных исследований, касающихся биологических препаратов.

В указанных выше публикациях материалов ВОЗ [4, 5] изложены требования к исходным материалам, составу, необходимому количеству образцов, условиям изготовления, контроля и хранения ЛРЭМ, а также к необходимой документации, сопровождающей эти материалы.

Методика и результаты работы. В данной работе представлены результаты разработки и применения в условиях лаборатории и опытно-промышленного производства эталонных серии вирусвакцины против ньюкаслской болезни (НБ) из штамма Ла-Сота. Исследования проведены при отработке на модели этой вакцины технологических процессов и контрольных операций, направленных на повышение качества вакцины и способов ее применения [6]. Эталонные серии вакцины использовали для стандартизации условий определения титра инфекционности вируса НБ, определения безвредности и иммуногенности образцов вакцины, постановки РТГА. Необходимость использования образцов для сравнения вызвана тем, что все используемые в работе тест-системы биологической природы (развивающиеся эмбрионы кур, птица разного возраста, эритроциты петуха и др.) нестандартны, что может привести к получению ошибочных результатов или к срыву опытов.

На начальных этапах работы эталонной условно считали серию вакцины, приготовленную в лабораторных условиях (300 флаконов), титр вируса в которой был установлен по результатам 5-ти титрований на куриных эмбрионах (КЭ) в 5-ти повторностях (по 5 параллельных проб в каждом разведении). Образцы эталонной серии (хранили при минус 40 °С) титровали всякий раз при определении титра вируса НБ в любом исследуемом материале на разных партиях эмбрионов, накапливая, таким образом, материал для статистической обработки данных. На рисунке 1 приведена диаграмма рассеивания данных (n = 135) титрования эталонной серии.

Статистический анализ (с применением программы MATHCad – 2001) этих данных показал:

– характер распределения значений титра вируса близок (с вероятностью 95 %) к нормальному, что позволяет обосновать возможность использования критериев нормального распределения для статистической обработки и анализа результатов экспериментов;

– неизменность величины титра инфекционности вируса эталонной серии в течение всего срока эксперимента (38 месяцев хранения образцов вакцины при температуре минус 40 °С), т.е. отсутствие «временного дрейфа» данных;

– отсутствие сезонной изменчивости чувствительности КЭ к вирусу НБ.

Возможность сезонной изменчивости эмбрионов к вирусу оценивали с помощью дисперсионного анализа данных на различия их среднесезонных значений. Для этого все данные (n = 135) разбивали на четыре группы значений, полученные в различные сезоны – зима, весна, лето и осень. Подсчитывали число данных в каждой группе, среднее значение титра вируса по сезону и другие, данные, необходимые для проведения дисперсионного анализа.

Таким образом, отсутствие «временного дрейфа» данных и сезонной изменчивости чувствительности КЭ к вирусу НБ свидетельствовало об однородности полученных данных (в течение срока наблюдения, в наших опытах не более трех лет) и давало право сравнивать между собой результаты определений независимо от даты и времени их получения. Среднее (по всем определениям) значение и стандартная ошибка среднего значения инфекционной активности вируса в эталонной серии вакцины составили $9,0 \pm 0,4 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, что позволило стандартизовать по этому показателю условия определения титра вируса.

В опытно-промышленных (на базе института) и промышленных (Курская биофабрика) условиях производства, для исключения возможных ошибок в определении титра инфекционности каждой выпускаемой серии вакцины, в качестве эталонной серии, использовали часть (не более 300 флаконов) выбранной серии вакцины, титр вируса которой был установлен по результатам пяти титрований на разных партиях эмбрионов в пяти повторностях (по пять параллельных проб в одном титровании). Образцы вакцины эталонной серии хранили в течение года при температуре \leq минус 40 °С и использовали при определении титра инфекционности каждой выпускаемой серии вакцины. Если полученное в ходе параллельного с испытуемой серией вакцины значение титра вируса эталонной серии укладывалось в интервал установленной для нее активности, например, $9,0 \pm 0,4 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, то условия определения считали стандартными, а полученное значение титра инфекционной активности вируса в контролируемой серии вакцины – достоверным при величине ошибки определения $\pm 0,4 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

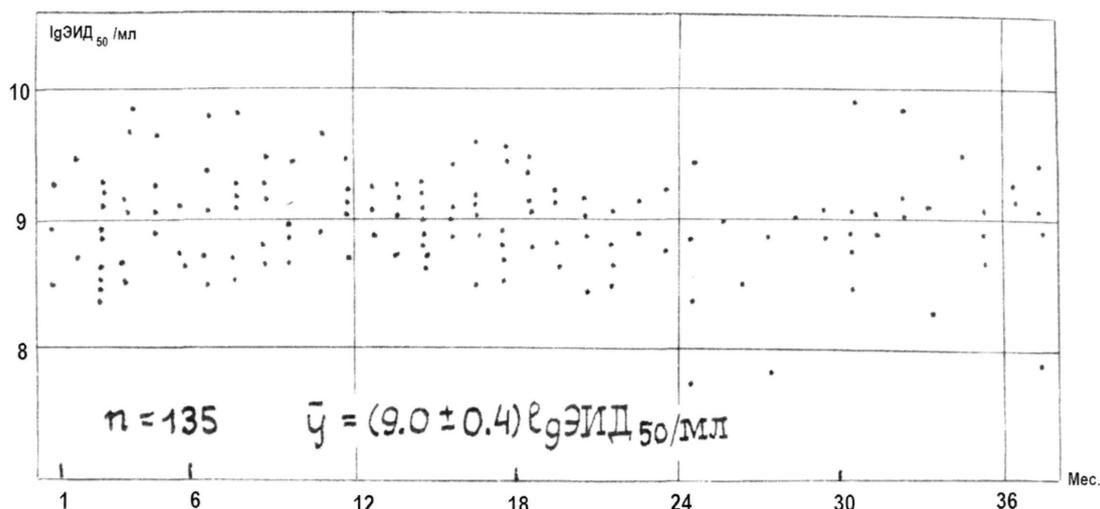


Рис. 1. Диаграмма рассеивания данных (n = 135) титрования эталонной серии.

Вывод. Таким образом, методические подходы и экспериментальные результаты, изложенные в статье, могут быть полезны как исследователям, занимающимся разработкой новых или совершенствованием существующих лекарственных средств для ветеринарии, в том числе иммунобиопрепаратов, так и их изготовителям, заинтересованным в высоком качестве своей продукции.

Список литературы

1. Как соответствовать современным требованиям GMP? Ж. «Чистые помещения и технологические среды». – 2004. – № 4. – С. 8-11.
2. Положение о лаборатории доклинических испытаний потенциальных лекарственных средств и биологически активных добавок к кормам (утв. РАСХН декабрь 2001 г.) Еремец В.И., Токарик Э.Ф., Еремец Н.К., Калугин С.В. 3. Скотникова Т.А., Неминущая Л.А., Токарик Э.Ф., Смоленский В.И., Руденко Т.В., Горева И.П. Лабораторный рабочий эталонный материал: назначение, принципы приготовления, характеристика и калибровка //1 Международный ветеринарный конгресс по птицеводству (18-22 апреля 2005), – Москва. – 2005. – С.147-152. 4. Серия технических докладов ВОЗ. – 1990. – № 760. 5. Серия технических докладов ВОЗ. – 1991. – № 771.6. Скотникова Т.А. Совершенствование технологии производства и способов применения вакцин против ньюкаслской болезни. Автореф. дисс. докт. биолог. наук. Щелково. – 2010. – 48 с.

LABORATORY WORKING REFERENCE MATERIAL IN MAINTENANCE AND QUALITY ASSURANCE VIRUS VACCINE AGAINST NEWCASTLE DISEASE

Skotnikova T.A., Neminushchaya L.A., Tokarik E.F., Samuylenko A.Ya., Yeremets V.I.

All-Russian Scientific Research Technical Institute for Biological Industry, Schelkovo, Russian Federation

In the given work results of working out and application in the conditions of laboratory and trial manufacture reference are presented a series virus vaccine against Newcastle disease (ND) from strain La-Sota. Researches are spent at working off of technological processes and the control operations directed on improvement of quality of a vaccine and ways of its application.

УДК 619:616.98:578.823.1:595.7

ДО ПРОБЛЕМ ЕНТОМОЛОГІЧНОГО МОНИТОРИНГУ БЛЮТАНГУ

Стегній Б.Т., Філатов С.В., Кучерявенко Р.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Рубленко М.В.

Національна академія аграрних наук України, м. Київ

Блютанг – неконтагіозна інфекційна хвороба свійських та диких жуйних, збудником якої є вірус, що належить до роду *Orbivirus*, родини *Reoviridae*. Основним шляхом передачі захворювання від однієї сприйнятливої тварини до іншої є біологічна трансмісія деякими видами кровосисних мокреців роду *Culicoides* (*Diptera: Ceratopogonidae*) [1]. За своїми екологічними особливостями збудник блютангу належить до арбовірусів, тобто здатний до реплікації в організмі двох філогенетично віддалених хазяїв, один з яких є кровосисним членистоногим та здійснює трансмісію вірусу до організму іншого – хребетної тварини, яка проявляє ознаки віремії. Такий механізм передачі є унікальним для групи арбовірусів, яка поєднує понад 500 видів з різних родин, кожна з яких, за єдиним виключенням (вірус африканської чуми свиней, родина *Asfarviridae*), є РНК-вмісними вірусами [2]. Вірус блютангу – типовий вид роду *Orbivirus*, всі представники якого мають геном у вигляді 10 сегментів двоспіральної РНК, здатні до реплікації в організмі членистоногих – переносників та є патогенами сільськогосподарських і диких тварин та людини. Окрім блютангу, до хвороб орбівірусної етіології, які мають особливе ветеринарне значення, відносять африканську чуму коней та епізоотичну геморагічну хворобу оленів. В епізоотології всіх трьох захворювань роль біологічних переносників відіграють мокреці [3].

Протягом останніх десятиріч багатьма дослідниками відмічається тенденція до глобалізації поширення арбовірусних захворювань. Хвороби, які раніше вважалися суто тропічними, розширюють свої нозоареали все далі і далі на північ. Частково це обумовлюється загальним потеплінням клімату та пов'язаним із ним розширенням ареалів переносників. Окрім того, суттєву