

УДК 636.09:578:615.371

**РОМАНЕНКО О.А.**, канд. вет. наук, e-mail romanenko.oleg15@gmail.com  
 Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів  
 мікроорганізмів

## МІЖНАРОДНІ ВИМОГИ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ КОНТАМІНАЦІЇ СТОРОННІМИ БІОЛОГІЧНИМИ АГЕНТАМИ В ПРОЦЕСІ ВИГОТОВЛЕННЯ ВАКЦИН ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

*Наведено результати аналізу міжнародних вимог щодо стратегії та методологічних основ дослідження контамінації сторонніми біологічними агентами в процесі виготовлення та контролю імунобіологічних засобів для ветеринарної медицини. Показана відмінність у вимогах, що зазначені у директивах і спеціальних рекомендаціях Комітету з лікарських засобів для ветеринарного використання ЄС, Європейської Фармакопеї та Коду федеральних правил США щодо контролю головної, робочої посівної культури клітинних ліній; головної посівної культури вірусу; готового продукту та матеріалів тваринного походження.*

**Ключові слова:** вакцини, контамінація, міжнародні вимоги.

**Вступ.** Першорядної ваги в гарантуванні безпеки живих і інактивованих вакцин для ветеринарної медицини є їх характеристики і демонстрація відсутності контамінації сторонніми агентами. Біологічні субстрати, інгредієнти і продукти для ветеринарних вакцин, що виготовляються *in vivo* та *in vitro* повинні бути досліджені на стабільність та ідентичність, а також на відсутність потенційних контамінантів: вірусів, бактерій, грибів та мікоплазм.

В країнах Євросоюзу та США при дослідженні на наявність сторонніх агентів нормативно-правовою основою є директиви і спеціальні рекомендації Комітету з лікарських засобів для ветеринарного використання (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP)) [1–4], Європейської Фармакопеї (European Pharmacopoeia (Ph Eur)) [5] та Коду федеральних правил (Code of Federal Regulations (Title 9; Animals and Animal Products (9CFR)) [6].

**Метою роботи** було провести аналіз вимог щодо досліджень на відсутність контамінації ветеринарних імунобіологічних засобів.

**Матеріали і методи дослідження.** Нормативно-правові документи ЄС та США, що регламентують виробництво та контроль ветеринарних імунобіологічних засобів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Стратегія дослідження повинна базуватись на походженні продукту, цільовому виді та місці на ринку і включати в себе:

- головну, робочу посівну культуру клітинних ліній, а також її найвищий пасаж, що допускається у технологічному процесі;
- головну посівну культуру вірусу;
- готовий продукт;
- матеріали тваринного походження (наприклад трипсин, сироватка, плазма тощо).

Для виявлення потенційних вірусних контамінантів, відповідно підготовлені досліджувальні зразки вносяться у чутливі лінії культур клітин. Залежно від матеріалу використовують деякі, або всі із нижченаведених клітинних культур:

- первинні лінії одного видового походження (Ph Eur, CVMP);
- перещеплювальні лінії, що чутливі для патогенних вірусів тих видів тварин, для яких призначено вакцину (Ph Eur, CVMP, 9CFR);
- культури клітин чутливої до *Pestivirus* (Ph Eur, CVMP);
- аналогічних ліній (9CFR);
- Vero (9CFR).

Вибір культур клітин базується на їх чутливості до потенційних вірусних контамінантів. Потенційні контамінанти детально описані в спеціальних рекомендаціях Комітету з лікарських засобів для ветеринарного використання (табл. 1).

Таблиця 1

**Сторонні біологічні агенти у культуральних вакцинах для ветеринарної медицини, що застосовуються ссавцям**

№ з/п	Походження культури клітин	Віруси	Невірусні агенти
1	2	3	4
1	ВРХ	<i>Adenovirus subgroups 1 and 2, Akabane virus, Aujeszky's disease virus, Bluetongue virus, Epizootic hemorrhagic disease virus, Bovine coronavirus, Bovine ephemeral fever virus, Bovine herpesviruses, Bovine leukaemia virus, Bovine papillomaviruses, Bovine parvovirus, Bovine papular stomatitis virus, Pseudocowpoxvirus, Bovine respiratory syncytial virus, Bovine rotavirus, Bovine viral diarrhoea virus, Cowpox, Vaccinia virus, Foot and mouth disease virus, Lumpy skin disease virus, Malignant catarrhal fever (African and European form), Parainfluenza 3 virus, Rabies virus, Rift Valley fever virus, Rinderpest virus, Vesicular stomatitis virus</i>	<i>Brucella abortus, Leptospira spp, Mycobacterium tuberculosis and paratuberculosis, Mycoplasma sp, Salmonella sp</i>
2	Вівці	<i>Adenovirus subgroups 1 and 2, Akabane virus, Aujeszky's disease virus, Bluetongue virus, Epizootic hemorrhagic disease virus, Bovine herpesviruses, Bovine leukaemia virus, Bovine papillomaviruses, Bovine viral diarrhoea virus, Cowpox, Vaccinia virus, Foot and mouth disease virus, Parainfluenza 3 virus, Rift Valley fever virus, Border disease virus, Borna disease virus, Louping ill virus, Nairobi sheep disease virus, Ross River virus, Scrapie, Orf virus, Peste des petits ruminants.</i>	<i>Leptospira spp, Mycobacterium tuberculosis and paratuberculosis, Mycoplasma sp, Salmonella sp, Chlamydia ovis, Brucella melitensis</i>
3	Кози	<i>Adenovirus subgroups 1 and 2, Akabane virus, Aujeszky's disease virus, Bluetongue virus, Epizootic hemorrhagic disease virus, Bovine herpesviruses, Cowpox, Vaccinia virus, Foot and mouth disease virus, Parainfluenza 3 virus, Rift Valley fever virus, Caprine arthritis encephalitis virus, Orf virus, Maedi visna virus, Peste des petits ruminants.</i>	<i>Leptospira spp, Mycobacterium tuberculosis and paratuberculosis, Mycoplasma sp, Salmonella sp, Brucella melitensis</i>

(продовження табл. 1)

1	2	3	4
4	Свині	<i>African swine fever virus, Aujeszky's disease virus, Bovine viral diarrhoea virus, Classical swine fever virus, Encephalomyocarditis virus, Foot and mouth disease virus, Haemagglutinating encephalomyelitis virus, Transmissible gastroenteritis virus and Porcine respiratory coronavirus, Porcine adenoviruses, Porcine cytomegalovirus, Porcine enteroviruses, Porcine influenza virus, Porcine parvovirus, Porcine respiratory and reproductive syndrome virus, Porcine vesicular exanthema virus, Rabies virus, Vesicular stomatitis virus</i>	<i>Brucella suis, Mycoplasma hyopneumoniae, Mycoplasma hyorhinis</i>
5	Коні	<i>African horse sickness virus, Borna disease virus, Equine arteritis virus, Equine encephalomyelitis viruses, Equine herpesviruses, Equine infectious anaemia virus, Equine influenza virus, Japanese encephalitis virus, Rabies virus, Vesicular stomatitis virus</i>	
6	Коти	<i>Aujeszky's disease virus, Cowpoxvirus, Feline calicivirus, Feline herpesvirus 1, Feline leukaemia virus/Feline sarcoma virus, Feline panleukopenia virus, Feline syncytia forming virus, Rabies virus</i>	<i>Chlamydia psittaci</i>
7	Собаки	<i>Aujeszky's disease virus, Canine adenoviruses 1 and 2, Canine coronavirus, Canine distemper virus, Canine herpesvirus, Canine parvovirus, Parainfluenza 2 virus, Rabies virus</i>	<i>Brucella cannis</i>
8	Кролі	<i>Arenavirus, Aujeszky's disease virus, Encephalomyocarditis virus, Myxoma virus, Shope fibroma virus, Rabbit hemorrhagic disease virus, Rabies virus</i>	
9	Гризуні	<i>Arenavirus, Encephalomyocarditis virus, Rabies virus</i>	
10	Vero	<i>Bovine viral diarrhoea virus, Endogenous retroviruses, Reoviruses, SV40 virus, SV5 virus</i>	<i>Mycoplasma spp,</i>

Клітини культивують відповідний період з регулярним пасажуванням і оглядом на цитопатичні ефекти і морфологічні зміни. Протягом і/або після періоду культивування проводять індикаторні тести: цитологічне фарбування, гемадсорбцію, імунофлуоресценцію (МФА), імуноферментний аналіз (ІФА) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР). Для детекції мікоплазм, бактерій, грибів та інших невірусних агентів проводять дослідження залежно від стадії посівної культури клітин, видового походження культури клітин, або вірусу і цільового виду тварин. Крім того проводять дослідження на ідентичність та побічні ефекти (табл. 2).

Моношари головної та робочої посівної культури для дослідження мають бути щонайменше 70 см<sup>2</sup> (Ph Eur) або 75 см<sup>2</sup> (9CFR) та культивуватися в подібних умовах, що і при виготовленні вакцин 21 день (9CFR) або 28 днів (Ph Eur). Субкультури готують зазвичай кожні 7 днів впродовж періоду культивування з регулярною мікроскопією на наявність цитопатичних агентів.

По закінченню періоду культивування проводять дослідження на наявність цитопатичних агентів шляхом фарбування, гемадсобуючих – гемадсорбцією, специфічних вірусів – МФА або іншими методами.

Таблиця 2

**Дослідження культур клітин, що використовуються у ветеринарній біотехнології**

№ з/п	Вид дослідження	Головна посівна культура клітин	Робоча посівна культура клітин	Найвищий пасаж культури клітин
1	Загальна мікроскопія	+	+	+
2	Контамінація бактеріями і грибами	+	+	-
3	Контамінація вірусами	+	+	-
4	Контамінація мікоплазмами	+	+	-
5	Видова ідентичність	+	-	±*
6	Каріологія*	+	-	+
7	Туморогенність*	+	-	-

**Примітка:** \* – не досліджують первинні лінії культур клітин.

Частину головної та робочої посівної культури після проведення вищеописаних досліджень щонайменше 140 см<sup>2</sup> (Ph Eur) або 75 см<sup>2</sup> (9CFR) тричі піддають замороженню/розмороженню із подальшим центрифугуванням та проводять аналогічні дослідження в первинній лінії одного видового походження (Ph Eur, CVMP); перещеплювальних лініях, що чутливі для патогенних вірусів тих видів тварин, для яких призначено вакцину (Ph Eur, CVMP, 9CFR); культурі клітин чутливої до *Pestivirus* (Ph Eur, CVMP); аналогічній лінії (9 CFR) та Vero (9 CFR).

Головна посівна культура вірусу, що використовується у виробництві ветеринарних вакцин для ссавців повина бути досліджена на накопичення, ідентичність, відсутність контамінації бактеріями, грибами, мікоплазмами, та сторонніми вірусами. Для дослідження посівної культури або готового продукту вірус повинен бути нейтралізований, щоб уникнути інфікування та його накопичення в культурі клітин. З цією метою використовують полі- або моноклональні антитіла, що отримані на антиген відмінний від посівної культури вірусу. Отримана нейтралізуюча сироватка повинна бути вільна від антитіл до потенційних контамінантів, а також будь-яких неспецифічних інгібіторів. Сироватка повинна бути використана в мінімальному об'ємі, щоб нейтралізувати вірус у титрі, що відповідає не менше ніж 10 доз вакцини в 1 см<sup>3</sup>. Альтернативні методи, щоб нейтралізувати або видалити вірус можуть бути використані за відсутності відповідної сироватки.

Вірус, якщо є необхідність попередньо нейтралізований, вносять у моношари відповідних ліній культур клітин щонайменше 70 см<sup>2</sup> (Ph Eur), або 75 см<sup>2</sup> (9 CFR) та культивують із приготуванням субкультур кожні 7 днів протягом не менше 28 днів (Ph Eur) або 14 днів (9 CFR). Клітини субкультур використовуються для подальших досліджень шляхом триразового циклу

заморожування / розморожування із внесенням у нові моношари (Ph Eur) або приготування принаймні однієї субкультури (9 CFR). Субкультури піддають регулярній мікроскопії на наявність цитопатичних агентів. По закінченню періоду культивування проводять дослідження на наявність цитопатичних агентів шляхом фарбування, гемадсобуючих – гемадсорбцією, специфічних вірусів – МФА або іншими методами.

Головна посівна культура вірусу та посівні культури клітин, що використовуються в процесі виготовлення вакцин для птиці повинні бути дослідженні на наявність контамінантів як і для ссавців, проте із деякими специфічними особливостями: курчата, ембріони та культури клітин, що використовуються у процесі виробництва і контролю повинні бути отримані із пташників із статусом «вільних від патогенної флори». Для виявлення контамінантів крім методів *in vitro*, використовуються також методи *in vivo* та *in ovo*. Повний ряд випробувань для детекції сторонніх вірусів у відповідно вимог CVMP та Ph Eur включає:

- дослідження на ембріонах, що розвиваються;
- дослідження в культурах клітин;
- дослідження на курчатах;
- дослідження на *Avian leucosis virus*;
- дослідження на *Avian reticuloendotheliosis virus*;
- дослідження на *Chick anaemia virus*.

Полі- або моноклональні антитіла отримують по тому принципу, що і для ссавців. Відповідно до вимог CVMP та Ph Eur сироватка не повинна містити антитіла до наступних збудників: *Avian adenovirus*, *Chick anaemia virus*, *Avian encephalomyelitis*, *Duck enteritis virus*, *Avian infectious bronchitis viruses*, *Duck hepatitis virus type 1 and type 2*, *Avian infectious bursal disease virus types 1 and 2*, *Egg drop syndrome virus*, *Avian infectious haemorrhagic enteritis virus*, *Fowl pox virus*, *Avian infectious laryngotracheitis virus*, *Influenza viruses*, *Avian leucosis viruses*, *Marek's disease virus*, *Avian nephritis virus*, *Turkey herpesvirus*, *Avian paramyxoviruses 1-9*, *Turkey rhinotracheitis virus*, *Avian orthoreoviruses*, *Newcastle disease virus*, *Avian reticuloendotheliosis virus*, що повинно бути підтверджено відповідними чутливими методами. Активність сироватки повинна бути достатньою для нейтралізації не менше ніж вірусу у титрі, що еквівалентний 10 доз/0,1 см<sup>3</sup> для досліджень *in vitro* та для досліджень 10 доз/0,2 см<sup>3</sup> *in vivo*.

Вірус, за необхідності попередньо нейтралізований, у кількості не менше, ніж 10 доз/0,2 см<sup>3</sup> вводять трьом групам із 10 ембріонів, що розвиваються: в аллантаїсну порожнину, на хоріоаллантаїсну оболонку та у жовтковий мішок. Ембріони інкубують впродовж 7 (групи 1 і 2) та 12 діб (група 3). Усі ембріони, що помирають через 24 години і більше, а також виживають протягом періоду інкубації піддають дослідженню на наявність макроскопічних змін. Аллантаїсну рідину та хоріоаллантаїсну оболонку досліджують на наявність гемаглютинуючих вірусів. В подальшому проводять аналогічний наступний пасаж шляхом об'єднання проб та введення аллантаїсної рідини в аллантаїсну

порожнину, хоріонантоїсних оболонки на хоріонантоїсну оболонку та ембріонів у жовтковий мішок.

Дослідження в культурі клітин нирок курей відповідно до вимог Ph Eur, CVMP. Вірус (нейтралізують за необхідності) і вносять у 5 повторах моношару щонайменше 25 см<sup>2</sup> клітинах нирок курей. Інокульовані клітини культивували протягом принаймні 21 дня із отриманням через кожні 4 – 7 субкультур. В кожну субкультуру вносять об'єднаної рідини з усіх 5 моношарів, які пройшли один заморожування / відтавання. Інокульовані культури регулярно досліджують на наявність цитопатичних агентів. По закінченню періоду культивування проводять дослідження на наявність на цитопатичних агентів шляхом фарбування, гемадсорбуючих – гемадсорбцією та гемаглютинуючих із використанням реакції гемаглютинації.

Дослідження на наявність *Avian leucosis virus* згідно вимог Ph Eur, CVMP. Вірус (нейтралізують при необхідності) і вносять у 5 повторах моношару щонайменше 50 см<sup>2</sup> первинної чи вторинної культури клітин фібробластів курей, що, як відомо, чутливі до підгруп А, В і J вірусів пташиного лейкозу. Інокульовані клітини культивують протягом принаймні 9 днів із отриманням субкультур з інтервалом 3 – 4 дні. Клітини від кожної субкультури зберігають і по завершенню досліджують на наявність групспецифічного антигену методом ІФА.

Дослідження на наявність *Avian reticuloendotheliosis virus* згідно вимог CVMP. Вірус (нейтралізують при необхідності) і вносять у 5 повторах моношару щонайменше 25 см<sup>2</sup> первинної чи вторинної культури клітин фібробластів курей або качок. Інокульовані клітини культивують протягом принаймні 10 днів із отриманням двох субкультур з інтервалом 3–4 дні. В кінці періоду культивування моношари досліджують на наявність *Avian reticuloendotheliosis virus* методом МФА.

Дослідження на наявність сторонніх вірусів з використанням курчат згідно вимог Ph Eur, CVMP. Не менше ніж 10 курчатом віком 2 тижні (старші курчата можуть бути використані якщо посівна культура вірусу патогенна для птахів в цьому віці) вводять вірус (попередньо нейтралізований, якщо потрібно) по 100 доз внутрішньом'язово і 10 доз окулярно. Повторюють щеплення через 2 тижні та спостерігають протягом 5 тижнів. Сироватку збирають від кожної птиці і досліджують серологічними методами (табл. 3).

Субстанції тваринного походження, такі як сироватка, плазма і трипсин, що використовуються при виробництві ветеринарних імунологічних продуктів, як інгредієнти живильного середовища або додаткові компоненти вакцин чи розріджувачів, також повинні бути дослідженні на відсутність контамінації сторонніми агентами.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** З ростом глобалізації виробництва ветеринарних імунобіологічних засобів, їх реєстрації та маркетингу є необхідність узгодження ряду стандартів на глобальному рівні.

**Дослідження сироватки крові на наявність антитіл**

№ з/п	Вид птиці	Збудник	Метод дослідження
1	Кури	<i>Avian adenoviruses group 1</i>	ВН, ІФА, РДП
		<i>Avian encephalomyelitis virus</i>	РДП, ІФА
		<i>Avian infectious bronchitis virus</i>	ІФА, РЗГА
		<i>Avian infectious laryngotracheitis virus</i>	ВН, ІФА, МФА
		<i>Avian leucosis viruses</i>	ВН, ІФА
		<i>Avian nephritis virus</i>	МФА
		<i>Avian orthoreoviruses</i>	МФА, ІФА
		<i>Avian reticuloendotheliosis virus</i>	РДП, МФА, ІФА
		<i>Chick anaemia virus</i>	ВН, МФА, ІФА
		<i>Egg drop syndrome virus</i>	РЗГА, ІФА
		<i>Avian infectious bursal disease virus</i>	Серотип 1 – РДП, ІФА, ВН, Серотип 2 – ВН, РДП, ІФА, РЗГА
		<i>Influenza A virus</i>	РДП, ІФА, РЗГА
		<i>Marek's disease virus</i>	РДП
		<i>Newcastle disease virus</i>	ІФА, РЗГА
		<i>Turkey rhinotracheitis virus</i>	ІФА
<i>Salmonella pullorum</i>	АГ		
2	Індики (додаткові збудники)	<i>Chlamydia spp.</i>	ІФА, РЗК, РДП
		<i>Avian infectious haemorrhagic enteritis virus</i>	РДП, ВН
		<i>Avian paramyxovirus 3</i>	РЗГА, ІФА
		<i>Avian infectious bursal disease virus type 2</i>	ВН
		<i>Turkey lympho-proliferative disease virus</i>	20 індикам в/ч вводять матеріал. Через 2 тижні у половини птиці проводять макро- та мікроскопічне дослідження селезінки та тимусу. За рештою птиці проводять спостереження не менше 40 днів.
3	Качки (додаткові збудники)	<i>Chlamydia spp</i>	ІФА, РЗК, РДП
		<i>Duck and goose parvovirus</i>	ВН, ІФА
		<i>Duck enteritis virus</i>	ВН, ІФА
		<i>Duck hepatitis virus</i>	ВН
4	Гуси (додаткові збудники)	<i>Duck and goose parvovirus</i>	ВН, ІФА
		<i>Duck enteritis virus</i>	ВН
		<i>Goose haemorrhagic polyomavirus</i>	Не менше ніж 10 гусенят вводять підшкірно матеріал та спостерігають за ними не менше 28 днів.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Guideline on requirements for the production and control of immunological veterinary medicinal products [Електрон. ресурс]. – режим доступу: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/07/WC500190007.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/07/WC500190007.pdf).
2. Table of extraneous agents to be tested for in relation to the Guideline on requirements for the production and control of immunological veterinary medicinal products [Електрон. ресурс]. – режим доступу: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2012/11/WC500134878.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/11/WC500134878.pdf).
3. Reflection paper on the replacement of cell lines used for the production of immunological veterinary medicinal products (IVMPs) [Електрон. ресурс]. – режим доступу: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Regulatory\\_and\\_procedural\\_guideline/2014/12/WC500179338.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2014/12/WC500179338.pdf).
- 3 Guideline on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medicinal products [Електрон. ресурс]. – режим доступу: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2012/09/WC500133066.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/09/WC500133066.pdf).
- 4 European Pharmacopoeia. 6 -th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. – 2007.
- 5 Code of Federal Regulations Title 9, Animals and Animal Products [Електрон. ресурс]. – режим доступу: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=0c9f10749d2caa5ed4f4a0408829e7b9&mc=true&node=pt9.1.113&rgn=div5>.

**МЕЖДУНАРОДНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КОНТАМИНАЦИИ СТОРОННИМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ В ПРОЦЕССЕ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИН ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ / Романенко О.А.**

*Приведены результаты анализа международных требований по стратегии и методологических основ исследования контаминации сторонними биологическими агентами в процессе изготовления и контроля иммунобиологических средств для ветеринарной медицины. Показана разница в требованиях, указанных в директивах и специальных рекомендациях Комитета по лекарственным средствам для ветеринарного использования ЕС, Европейской Фармакопеи и Кода федеральных правил США по контролю главной, рабочей посевной культуры клеточных линий; главной посевной культуры вируса; готового продукта и материалов животного происхождения.*

**Ключевые слова:** вакцины, контаминация, международные требования.

**INTERNATIONAL REQUIREMENTS FOR DETERMINATION OF EXTRANEIOUS BIOLOGICAL AGENTS DURING THE PRODUCTION OF VACCINES FOR VETERINARY MEDICINE / Romanenko O.A.**

***Introduction.** Characterization and demonstration absence of contamination with extraneous agents of live and inactivated veterinary vaccines are great impotence ensuring their safety. Biological substrates, ingredients and products for veterinary vaccines produced in vivo and in vitro must be investigated for the presence of potential contaminants including: viruses, bacteria, fungi and mycoplasma in addition to stability and identity where appropriate. Both the EU and USA provide guidelines and specific recommendations on extraneous agent testing of veterinary medicinal products through the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, the European Pharmacopoeia and the Code of Federal Regulations.*

***The goal of the work** was to analyze the requirements for absence of contamination of the veterinary immunological preparations.*



**Materials and methods of research.** *Legal documents of the EU and the United States governing the manufacture and control of veterinary immunological preparations.*

**Results of research and discussion.** *For the detection of potential viral contaminants, suitably prepared test materials are propagated in culture to allow amplification of viral contaminants using sensitive to the viruses cell lines. The choice of cells for each of the above categories is based on the sensitivity of a cell line to potential viral contaminants of the test material. Cultures are maintained for a minimum specified period with regular subculturing and observation for cytopathic effects, cytological staining and haemadsorption assay, in addition to specific virus screening tests such as immunofluorescence assay, enzyme linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction. Master working cell seeds, working cell seeds for the production of vaccines for veterinary use must be characterized to preclude extraneous agents and adverse properties. Testing includes microscopy, sterility, mycoplasma, viruses, species identity, karyology and tumorigenicity. Master seed viruses for mammalian veterinary vaccines must be tested to preclude extraneous agents. This testing includes propagation, identity, sterility, mycoplasma and extraneous viruses. To allow testing of the virus seed or final product for extraneous viruses in the appropriate cell culture system (in vitro assay), the virus are required to be neutralized. Neutralization is performed to prevent infection and propagation of the virus seed in the detector cells. Master seed viruses and cell seeds for avian veterinary vaccines must be tested to preclude extraneous agents. This testing includes details for mammalian vaccines with some additional specifications: any chickens, embryos and tissue cultures used in production of avian vaccines must be derived from specific pathogen free chicken flocks.*

**Conclusions and prospects of further research** *With the increased globalization of veterinary vaccine production, registration and marketing, there is also a consequent need for globally harmonized standards.*

**Keywords:** *vaccines, contamination, international requirements.*

#### REFERENCES

1. Guideline on requirements for the production and control of immunological veterinary medicinal products. (n.d.). *ema.europa.eu*. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/07/WC500190007.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/07/WC500190007.pdf).
2. Table of extraneous agents to be tested for in relation to the Guideline on requirements for the production and control of immunological veterinary medicinal products. (n.d.). *ema.europa.eu*. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2012/11/WC500134878.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/11/WC500134878.pdf).
3. Reflection paper on the replacement of cell lines used for the production of immunological veterinary medicinal products (IVMPs). (n.d.). *ema.europa.eu*. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Regulatory\\_and\\_procedural\\_guideline/2014/12/WC500179338.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2014/12/WC500179338.pdf).
4. Guideline on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medicinal products. (n.d.). *ema.europa.eu*. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2012/09/WC500133066.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/09/WC500133066.pdf).
5. European Pharmacopoeia (6-th ed). (2007). Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines.
6. Code of Federal Regulations Title 9, Animals and Animal Products. (n.d.). *ecfr.gov*. Retrieved from: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=0c9f10749d2caa5ed4f4a0408829e7b9&mc=true&node=pt9.1.113&rgn=div5>.