

SPECIFICKÉ POŽADAVKY PRO PRODUKCI A KONTROLU PTAČÍCH ŽIVÝCH A INAKTIVOVANÝCH VIROVÝCH A BAKTERIÁLNÍCH VAKCÍN

OBSAH

DEFINICE

I. ŽIVÉ VAKCÍNY

1. VÝCHOZÍ MATERIÁLY

2. FINÁLNÍ VÝROBEK – VÝSLEDKY ZKOUŠEK POŽADOVANÉ V ŽÁDOSTI O REGISTRACI

3. FINÁLNÍ VÝROBEK – TESTOVÁNÍ ŠARŽE

II. INAKTIVOVANÉ VAKCÍNY

1. VÝCHOZÍ MATERIÁLY

2. FINÁLNÍ VÝROBEK – VÝSLEDKY ZKOUŠEK POŽADOVANÉ V ŽÁDOSTI O REGISTRACI

3. FINÁLNÍ VÝROBEK – TESTOVÁNÍ ŠARŽE

PŘÍLOHA A

PŘÍLOHA B

PŘÍLOHA C

PŘÍLOHA D

Mnoho zásad pro produkci a kontrolu savčích vakcín platí stejně pro ptačí vakcíny. Kde byly požadavky zahrnuty v pokynu *Obecné požadavky pro produkci a kontrolu živých savčích bakteriálních a virových vakcín pro veterinární použití*, nebo v pokynu *Obecné požadavky pro produkci a kontrolu inaktivovaných savčích bakteriálních a virových vakcín pro veterinární použití*, nejsou tyto požadavky opakovány zde, ale je na ně uveden odkaz. V krátkosti jsou tyto uvedeny jako „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“ nebo případně „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“.

DEFINICE

Viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“.

Specifikovaného patogena prosté (SPF) – hejno SPF kuřat musí splňovat požadavky přílohy D těchto pokynů. Všechna vejce, embrya a kuřata, použitá buď v procesu výroby živé vakcíny nebo k přípravě

výchozích kultur pro inaktivovanou vakcínu nebo v kontrolním testování jakosti, musí pocházet z takového hejna.

OBECNÉ POŽADAVKY PRO PTAČÍ VAKCÍNY

Všechny virové vakcíny určené k použití u ptačích druhů musí být normálně v souladu s „Obecné požadavky pro živé/inaktivované savčí vakcíny“, jak jsou upraveny těmito pokyny.

I. ŽIVÉ VAKCÍNY

Dále uvedené části 1–3 uvádějí obecné specifikace, které se budou normálně aplikovat na všechny ptačí živé vakcíny.

1. VÝCHOZÍ MATERIÁLY

1.1 Substance živočišného původu

Viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“. Kde je dále uveden odkaz na vhodný inaktivační postup, tento se vztahuje na požadavky uvedené v „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, odstavec 1.1.3.

1.1.1 Substance savčího původu

Pro substance savčího původu budou testování na kontaminanty a postupy, kterých má být použito, zejména zaměřeny na takové mikroorganismy, o kterých je známo, že infikují druh původu substance a které mohou být patogenní pro ptáky.

1.1.2 Substance ptačího původu

Všechny šarže substancí ptačího původu musí pocházet z SPF hejna kuřat nebo musí být podrobeny vhodnému inaktivačnímu postupu. V tomto případě je seznam potenciálních kontaminantů, pro které musí být prokázáno, že jsou inaktivovány použitým postupem, uveden jako seznam v příloze B.

1.2 Embrya, kuřata, buněčné substráty a média

1.2.1 Virové vakcíny

Ptačí živé virové vakcíny musí být připraveny použitím embryí, kuřat nebo tkáňových kultur, získaných z vajec z hejn SPF kuřat, nebo jiných vhodných buněčných kultur.

Kde jsou použity savčí substráty, aplikuje se požadavek viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 1.2.

1.2.2 Bakteriální vakcíny

Viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, odstavec 1.5. Látky živočišného původu musí splňovat požadavky části 1.1 těchto pokynů.

1.3 Výchozí virus

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 1.3 s následujícími modifikacemi.

1.3.1 Cizí původci

Každá šarže antiséra požadovaná částí 1.3.5 musí být prostá protilátek k relevantním mikroorganismům uvedeným v příloze C. Každá šarže musí být prostá všech

nespecifických inhibujících účinků na schopnost virů infikovat a pomnožit se v kuřatech, embryích a tkáňových kulturách, podle příslušnosti.

1.3.2 Testy na embryích a in vitro

Finální směs virus/sérum musí obsahovat množství viru, které je ekvivalentní nejméně 10 dávkám vakcíny na 0,1 ml, jestliže je to možné. Tato směs je potom definována jako látka a použita v testování cizích původců na embryonovaných vejcích (Evropský lékopis), v testování na virus leukózy (Evropský lékopis), v testování na virus reticuloendotheliosis (viz přílohu A, část 1), v testování na cizí původce při použití tkáňových kultur (Evropský lékopis) a v testování na původce anémie kuřat (viz přílohu A, část 3).

1.3.3. Test na kuřatech

Vzorek matečného inokula viru musí být definován jako vakcína a musí být použit v testu na bezpečnost a cizí původce při použití kuřat (viz přílohu A, část 2).

1.4 Výchozí bakterie

Viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, odstavec 1.4.

2. **FINÁLNÍ PRODUKT – VÝSLEDKY ZKOUŠKY POŽADOVANÉ V ŽÁDOSTI O REGISTRACI**

Použité čelenžní viry a bakterie musí být označeny jako kmen, mít uvedený původ a být připraveny systémem jednotné inokulace. Jestliže je to vhodné, musí být šarže použitých čelenžních kmenů uvedena na formuláři uvádějícím výsledek testování šarže. Čelenžní kmeny musí být skladovány odděleně od vakcinačních virových kmenů.

2.1 Bezpečnost

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 2.1, s následujícími modifikacemi.

Výsledky testování na bezpečnost a cizí původce na kuřatech (viz přílohu A, část 2) provedeného během testování matečného inokula viru (viz 1.3.3), a obsahující vyšetření post mortem provedená u všech ptáků uhynulých během období testování, musí normálně obsahovat část důkazu pro bezpečnost vakcín, doporučených pro použití u kuřat.

Možnost vakcinačního viru vyvolávat latentní infekci musí být uvedena žadatelem.

2.1.1 Bezpečnost aplikace jedné dávky

V testu se neočekává, že budou zaznamenány rektální teploty. Jako měřítko provádění musí být prokázáno, že ptačí vakcíny doporučené pro použití u snášejších ptáků nesmí mít žádný nepříznivý účinek na jejich systém produkce vajec.

2.1.2 Šíření ve vakcinovaném zvířeti

V testech musí být prokázáno, že vakcinační mikroorganismus se nepřenáší prostřednictvím vajec vakcinované samice, jestliže je vakcína určena k podání během snášky nebo bezprostředně předtím a jestliže mají být vejce použita k nasazení.

2.1.3 Návrat k virulenci

V testu musí být provedeno nejméně pět sériových pasáží, přičemž nesmí být použito pro každou pasáž méně než 10 plně vnímavých ptáků.

2.1.4. Interakce

Pro splnění požadavků musí být vyšetřeno použití vakcíny během 14ti dnů od dalších odlišných vakcinací, aby se prokázalo, že její použití neinterferuje s bezpečností jiných odlišných vakcinací a že tato vakcinace sama o sobě není ovlivněna těmito odlišnými vakcinacemi. Tato vyšetření musí být provedena tam, kde je doporučeno v literatuře týkající se přípravku, že další vakcíny mají být aplikovány během 14ti dnů. Při absenci takových informací se bude požadovat v dokumentaci na přípravek uvedení kontraindikace.

Kde může vakcína způsobit imunosupresi, je třeba věnovat pozornost rozšíření studia interakcí na různé vakcinace použité během 21ti dnů, spíše než 14ti dnů.

2.1.5 Terénní ověřování

Neočekává se, že během terénních ověřování se zaznamenávají rektální teploty vakcinovaných ptáků. Prováděcí opatření pro brojlery musí zahrnovat týdenní mortalitu, stupeň konverze krmiv, stáří a hmotnost při porážení a snížení konfiškátů ve zpracovatelském závodě. Jako opatření pro provádění nesmí být prokázáno, že ptačí vakcíny doporučené pro použití u snášejších ptáků mají signifikantní nepříznivé účinky na systém produkce vajec, jestliže je vakcína určena k aplikaci během snášky nebo bezprostředně před ní.

2.2 Účinnost

Musí být dodrženy požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 2.2, s výjimkou studií kompatibility pro vakcíny aplikované současně a nejméně 14 dnů před a po testovaném přípravku (viz 2.1.4).

Musí být podán důkaz o trvání odpovědi u vakcinovaných ptáků všech cílových druhů a tříd. Tento důkaz musí zahrnovat informaci o přetrvávání hladin protilátky u vakcinovaných ptáků po požadované období.

Pro vakcíny určené k ochraně potomstva vakcinovaných samic prostřednictvím mateřské imunity musí být předloženy údaje prokazující trvání ochrany potomstva vylíhlého z vajec odebraných na konci období, pro které je uvedena účinnost vakcíny (obvykle konec snášky).

2.3 Stabilita

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 2.3.

2.4 Výsledky kontroly kvality šarže

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 2.4.

3. FINÁLNÍ PRODUKT – TESTOVÁNÍ ŠARŽE

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, část 3, s následujícími modifikacemi.

3.1 Bezpečnost

Jestliže je to vhodné, šarže vakcíny, která má být testována, se zředí v šarži zředovače, s kterou má být prodávána.

3.1.1 Vakcíny pro použití u kuřat od 2 týdnů stáří

Pro vakcíny doporučené pro použití u kuřat, ale ne u ptáků mladších dvou týdnů, budou normálně jako důkaz bezpečnosti každé šarže vakcíny postačující výsledky z testování na bezpečnost a cizí původce u kuřat (jak je požadováno 3.2.1), s podmínkou, že je provedeno vyšetření post mortem u všech ptáků, kteří uhynou během období testování.

3.1.2 Vakcíny pro použití u kuřat mladších 2 týdnů

U každé šarže vakcíny doporučené pro použití u kuřat mladších dvou týdnů stáří musí být prokázáno, že je bezpečná u nejméně 10 SPF jednodenních kuřat, pokud není předepsán odlišný počet ve specifické monografii Evropského lékopisu a vakcína musí být aplikována cestou uvedenou v monografii. Kde neexistuje monografie, vakcíny, které mají být aplikovány sprejem nebo v pitné vodě, budou podány kápnutím do oka. Jinak musí být vakcína podána jednou z doporučených cest.

Každý pták musí obdržet nejméně desetinásobnou terénní dávku vakcíny. Inokulování ptáci musí být pozorováni po nejméně 21 dnů na nepříznivé účinky, které je možné přičíst na vrub vakcíně.

3.1.3 Vakcíny pro použití u jiných ptáků než jsou kuřata

Použitím jedné z doporučených cest aplikace musí být prokázáno u každé šarže vakcíny doporučené pro použití u jiného ptačího druhu než jsou kuřata, že je bezpečná u nejméně 10ti ptáků cílového druhu zvířat a nejcitlivější cílové věkové třídy.

Každý pták musí dostat nejméně 10 terénních dávek vakcíny. Inokulování ptáci musí být pozorováni po nejméně 21 dnů na nepříznivé účinky, které lze přičíst na vrub vakcíně.

Jestliže u některého z ptáků dojde k významné místní nebo systémové reakci, nebo jestliže jsou pozorovány nějaké příznaky poruchy dýchání nebo nervové příznaky, nebo jiné příznaky onemocnění, jiné než jsou mírné příznaky, které lze přičíst na vrub vakcíně, potom je šarže nevyhovující a musí být vyřazena.

3.2 Cizí původci

3.2.1 Test in vivo

Vzorek každé šarže vakcíny musí být definován jako vakcína a musí být použit v testu na bezpečnost a cizí původce použitím kuřat (viz přílohu A, část 2).

3.2.2 Testy in vitro

Vzorek každé šarže vakcíny musí být, jestliže je to možné, neutralizován antisérem, připraveným jak je uvedeno v 1.3.1. Nesmí být použit nadbytek séra. Finální směs virus/sérum musí obsahovat nejméně obsah viru deseti dávek vakcíny v 0,1 ml, jestliže je to možné.

Neutralizovaná vakcína musí být definována jako substance a musí být použita v testu na cizí původce při použití embryonovaných vajec (Evropský lékopis), v testu na viry leukózy (Evropský lékopis), v testu na virus reticuloendotheliosis (viz přílohu A, část 1), v testu na cizí původce při použití tkáňových kultur (Evropský lékopis) a v testu na původce anémie kuřat (viz přílohu A, část 3).

Jestliže je zjištěno nějaké cizí agens, které lze přičíst na vrub finálnímu produktu, potom je taková šarže nevyhovující a musí být vyřazena.

3.3 Titr viru

Pro testování plakotvorných jednotek může být použito jedno zředění vakcíny, jestliže se počty spočítaných plaků pohybují mezi 50–200. Počet použitých opakování v testu musí být závislý na požadované přesnosti výsledků testu. Předpokládá se, že počet 5 stejných vyšetření může být přiměřeným.

Každá podšarže vakcíny může být titrována v jakémkoli poskytnutém zředovači.

3.4 Bakteriální titr

Viz „Obecné požadavky pro živé savčí vakcíny“, odstavec 3.6.

3.5 Zředovač

3.5.1 Virucidní účinek

U všech šarží zředovačů musí být prokázáno, že jsou prosté virucidních účinků na vakcinační virus titrováním směsi vakcíny bezprostředně po naředění a opět po 2 hodinách při teplotě místnosti. Ztráta titru po 2 hodinách nesmí být více než 50 % původního titru, jestliže je měřeno testem plakotvorných jednotek, a ne více než pětinásobný pokles nebo jeden stupeň ředění (jakkoliv nízkého) původního titru, jestliže je měřeno testy TKID₅₀ nebo EID₅₀.

Alternativně může být zředovač testován pomocí jiných citlivých virů, např. obalených virů, s podmínkou, že metoda je platná.

II. INAKTIVOVANÉ VAKCÍNY

Dále uvedené části 1–3 poskytují obecné specifikace, které se budou normálně aplikovat na všechny ptačí inaktivované vakcíny.

1. VÝCHOZÍ MATERIÁLY

1.1 Substance živočišného původu

Viz „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“.

Požadavky části 1.1 Požadavky pro živé ptačí vakcíny také platí pro inaktivované ptačí vakcíny.

1.2 Embrya, kuřata, buněčné substráty a média

1.2.1 Virové vakcíny

Všechna embrya nebo tkáňové kultury použité v produkci výchozího materiálu musí pocházet z SPF hejna.

Inaktivované ptačí virové vakcíny musí být normálně připraveny pomocí embryí nebo tkáňových kultur pocházejících z vajec z SPF hejn nebo zdravých ne-SPF hejn, prostých přítomnosti určitých původců a jejich protilátek, jak může být specifikováno pro určitý přípravek, nebo pomocí dalších vhodných buněčných kultur.

Kde je nutné použít kuřata, poněvadž virus nemůže být úspěšně pomnožen v jiných substrátech, musí být použita k produkci vakcíny kuřata SPF.

Kde jsou použity savčí substráty, použijí se požadavky „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, část 1.2.

1.2.2 Bakteriální vakcíny

Viz „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, odstavec 1.5. Substance živočišného původu musí splňovat požadavky části 1.1 těchto pokynů.

1.3 Výchozí virus

Výchozí virus musí splňovat požadavky části 1.3 pokynů *Specifické požadavky pro produkci a kontrolu ptáčích živých a inaktivovaných virových a bakteriálních vakcín* s výjimkou, že inokulační dávka v 1.3.2 může být snížena na 1/10 dávky uvedené a, v 1.3.3 může být použit neutralizovaný vzorek matečného inokula viru v testu na bezpečnost a cizí původce pomocí kuřat, jestliže je výchozí virus nemodifikovaným kmenem přirozeně virulentního viru pro kuřata.

1.4 Výchozí bakterie

Viz „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, odstavec 1.4.

1.5 Čistota sklizeného antigenu

U virů pomnožených ve vejcích musí být každá šarže sklizeného klarifikovaného viru vyšetřena na přítomnost bakterií a získaná hodnota musí být obsažena v protokolu o vyšetření šarže.

1.6 Výrobní proces – inaktivace

Viz „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, odstavec 1.9.

2. **FINÁLNÍ PRODUKT – VÝSLEDKY ZKOUŠKY POŽADOVANÉ V ŽÁDOSTI O REGISTRACI**

2.1. Bezpečnost

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, část 2.1.

U aviárních vakcín doporučených k použití u snášejších ptáků musí být prokázáno, že nemají žádné nepříznivé účinky na produkci a kvalitu vajec.

2.2 Účinnost

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, část 2.2, jak je modifikováno dále.

2.2.1 Délka imunity

Musí být poskytnut důkaz o trvání odpovědi u vakcinovaných ptáků všech cílových druhů a tříd. Tento důkaz musí zahrnovat informaci o přetrvávání hladin protilátky u vakcinovaných ptáků po požadované období. V častých intervalech musí být provedena sérologická vyšetření, aby se prokázalo, že odpověď nebyla zesílena vnější infekcí.

U vakcín určených k pasivní ochraně potomstva musí důkaz také prokazovat, že je přiměřeně chráněno potomstvo vylíhlé z vajec odebraných na konci požadovaného období.

Jestliže je to vhodné pro zařazení vakcíny, může být požadovaný důkaz získán z kontrolovaných ptáků vakcinovaných podle doporučeného schématu. Pro všechny třídy vakcíny je závěrečná dávka podána v nejdřívějším doporučeném stáří.

Závěrečná vyhodnocení odpovědi jsou provedena na konci požadovaného období, kterým je doba, kdy vakcinovaní ptáci jsou: ve stáří, ve kterém mohou být tito ptáci normálně poraženi; ve stáří, ve kterém je doporučena revakcinace; nebo, v případě snášejších kuřic, nejsou staré méně než 60 týdnů.

2.2.2 Terénní ověřování

Neočekává se, že během terénních ověřování se zaznamenávají rektální teploty vakcinovaných ptáků. Prováděcí opatření pro brojlery musí zahrnovat týdenní mortalitu, stupeň konverze krmiv, stáří a hmotnost při porážení a snížení konfiskátů ve zpracovatelském závodě. Jako opatření pro provádění nesmí být prokázáno, že ptačí vakcíny doporučené pro použití u snášejících ptáků mají nepříznivé účinky na systém produkce vajec.

3. FINÁLNÍ PRODUKT – TESTOVÁNÍ ŠARŽE

Aplikují se požadavky „Obecné požadavky pro inaktivované savčí vakcíny“, část 3, jak je modifikováno dále. Testy na inaktivaci mohou být provedeny s hromadnou sklizní před přidáním adjuvans.

3.1 Bezpečnost

V testu bezpečnosti se inokulují deseti zdravým ptákům, starým nejméně 14–28 dnů, nebo nejmenšího stáří doporučeného pro vakcinaci, jestliže je menší než 14 dnů, jednoho z cílových druhů zvířat dvě terénní dávky doporučeným způsobem a pozorují se po tři týdny na příznaky abnormálních místních nebo systémových reakcí.

PŘÍLOHA A

Testy na cizí původce

OBECNÁ HLEDISKA

- a) Kuřata, embrya a tkáňové kultury použité v následujících testech musí pocházet z SPF kuřecích hejn.
- b) Sérum použité pro buněčnou kulturu a všechny další účely v každém z těchto testů musí být prosté protilátek proti mikroorganismům uvedeným v příloze C.

1. TEST NA VIRUS RETICULOENDOTHELIOSIS (REV)

- A1.1 Test na REV může být proveden pomocí testování sérologické odpovědi na SPF kuřatech nebo testu na tkáňové kultuře při použití vhodné citlivé metody.

Dále popsaná metoda je uvedena jako příklad.

- A1.2 Připraví se 12 monolayerů primárních nebo sekundárních fibroblastů kuřecích nebo kachních embryí ze tkání 10 dnů starých embryí. Každý monolayer musí pokrývat plochu přibližně 25 cm².

Na každý z pěti splývajících monolayerů zbavených média se inokuluje 0,1 ml substance. Za hodinu se dekantují tekutiny z kultur a nahradí se čerstvým růstovým médiem.

Inokulujte čtyři z monolayerů REV jako pozitivní kontroly. Ponechejte tři neinokulované monolayeru jako negativní kontroly.

Inkubujte monolayeru při 38,5°C po 10 dnů, subkultivujte dvakrát ve 3–4denních intervalech. Poslední subkultivace musí zahrnovat pomnožování fibroblastů na krycích sklíčkách a musí na krycích sklíčkách na konci inkubace vyústit v 10 cm² souvislých fibroblastů z každého z původních 12 monolayerů.

- A1.3 Imunofluorescenčním testem se vyšetří na přítomnost REV nejméně 10 cm² splývajících monolayerů na krycích sklíčkách s fibroblasty z každého z původních 12 monolayerů.

- A1.4 Jestliže se REV zjistí v méně než ve třech ze čtyř pozitivních kontrolních monolayerů, potom je test neplatný a musí být opakován. Jestliže se REV zjistí v některém z negativních kontrolních monolayerů, nebo jestliže jsou výsledky z více než jednoho negativního kontrolního monolayeru dubiózní, potom je test neplatný a musí být opakován.

Jestliže jsou výsledky z více než jednoho z testovaných monolayerů dubiózní, potom musí být provedeny další subkultivace fibroblastů a vyšetřovány tak dlouho, dokud není získán jednoznačný výsledek.

2. VYŠETŘENÍ⁽¹⁾ NA BEZPEČNOST A CIZÍ PŮVODCE POUŽITÍM KUŘAT

Zkratky

AGP = Precipitace v agarovém gelu

⁽¹⁾ Žádný test na uvedeného (uvedené) původce nemusí být proveden, jestliže se mikroorganismus (mikroorganismy) nevyskytuje (nevyskytují) v zemi původu viru a substrátu.

CFT	=	Komplementfixační test
ELISA	=	Enzymoimunoanalýza
FAT	=	Imunofluorescenční test
HI	=	Inhibice hemaglutinace
VN	=	Virusneutralizace

- A2.1 Provedení testu, jak je popsáný v Evropském lékopisu (V.2.1.3.5).
- A2.2 Navíc, vyšetření protilátek jak je popsáno dále, pomocí uvedeného testu nebo jiné vhodné platné citlivé vyšetřovací metody.
- A2.3
- | Mikroorganismus | Typ testu |
|-------------------------------|-------------|
| Virus nefritidy ptáků | FAT |
| Původce anémie kuřat | FAT nebo VN |
| Virus rinotracheitidy krocanů | ELISA |
- A2.4 Navíc k testům uvedeným v Evropském lékopisu a v A2.3, vakcíny pocházející z virů krocaního původu nebo pomnožené na krocaních substrátech musí být testovány na protilátky proti následujícím:
- | | |
|---|---------------|
| Chlamydie | CFT nebo AGP |
| Virus lymfoproliferativního onemocnění ⁽²⁾ | nebo ELISA |
| Paramyxovirus 3 | ELISA nebo HI |
| Virus enteritidy krocanů (Blue Comb) | FAT nebo VN |
- A2.5 Navíc k testům uvedeným v Evropském lékopisu a v A2.3, vakcíny pocházející z virů kachního původu nebo pomnožené na kachních substrátech musí být testovány na protilátky proti následujícím:
- | | |
|------------------------------|---------------|
| Chlamydie | CFT nebo AGP |
| Virus 1, 2 hepatitidy kachen | FAT nebo VN |
| Virus enteritidy kachen | ELISA nebo VN |
| Virus Derzsyho choroby | VN |

3. TEST NA PŮVODCE ANÉMIE KUŘAT (CAA)

- A3.1 Test na CAA může být proveden pomocí testování sérologické odpovědi na SPF kuřatech, nebo testem na tkáňové kultuře pomocí vhodné citlivé metody nebo pomocí jiných vhodných citlivých platných technik.
Dále popsána metoda je uvedena jako příklad.
- A3.2 Připravte dvanáct 20 ml suspenzí buněčné linie MDCC–MSBI v 25 cm² lahvičkách obsahujících 5 x 10⁵ buněk v ml. Inokulujte 100 µl substance do každé z pěti lahviček. Inokulujte čtyři ze suspenzí CAA jako pozitivní kontroly. Ponechejte tři neinokulované suspenze při 38,5°C po nejméně 24 dnů provádějící subkultivování osmkrát ve třídních intervalech. Na konci inkubačního období odstředte buňky z každé láhve při

⁽²⁾ Jestliže není spolehlivý sérologický test, bude vyšetření na nepřítomnost viru lymfoproliferativního onemocnění založeno na testu reversní transkriptázy nebo intraperitoneálním inokulování 20ti čtyřtýdenních krůtích kuřic. V tomto posledním uvedeném testu nesmí dojít k žádnému úhynu po dobu 40ti dnů inkubačního období. Dále, řezy sleziny a brzlíku odebraných od 10ti ptáků dva týdny po inokulaci nesmí mít žádnou změnu.

nízkých otáčkách a resuspendujte na 10^6 buněk v ml a kápněte 25 do každé z 10ti jamek mnohojamkového sklíčka. Vysušte buňky vzduchem a proveďte nepřímou FAT.

Podrobnosti testu:

1. Zřed'te CAA pozitivní a negativní séra na pracovní zředění.
2. Přidejte 30 μ l negativního séra na 2 oddělené skvrny na každém sklíčku a přidejte pozitivní sérum do dalších 8.
3. Ponechejte sklíčko při 100% relativní vlhkosti při 37 °C po 1 hodinu.
4. Jemně odstraňte nadbytek séra a promývejte sklíčka po nejméně 7 minut v 1 l PBS pH 7,6.
5. Odstraňte nadbytek PBS a opakujte promývání po dalších 7 minut.
6. Osušte hranu sklíček a vysušte mezi skvrnami pomocí vatového tamponu tak, aby žádný PBS nespojoval sousední vzorky. Nedotýkejte se pokrytých skvrn a nenechejte skvrny vyschnout.
7. Do každé skvrny přidejte 30 μ l králičího anti-kuřecího/fluorescein iso-thiocyanátu (RaCh/FITC) konjugátu.
8. Ponechejte sklíčko při 100% relativní vlhkosti při 37 °C po 1 hodinu v neprůsvitné nádobě.
9. Jemně odstraňte nadbytek RaCh/FITC a promyjte sklíčka (jako v bodě 4 a bodě 5), přitom je chraňte před světlem.
10. Osušte hrany sklíček a mezi skvrnami jako v bodě 6.
11. Montujte sklíčko do 50% glycerolu a přikryjte krycím sklíčkem.
12. Zhodnoťte výsledek na sklíčku pod UV mikroskopem.

A3.3 Během subpasážování může na přítomnost CAA poukazovat metabolická změna barvy v infikovaných kulturách, tj. kultivační tekutiny se stávají červenými ve srovnání s kontrolními kulturami. Jestliže k tomu dojde, je třeba provést FAT bez další pasáže.

A3.4 CAA musí být zjištěn nejméně ve třech ze čtyř pozitivních kontrol; jinak musí být test opakován. Jestliže je CAA zjištěn v některé z inokulovaných kontrol, musí být test opakován. Jestliže jsou výsledky u více než jedné z testovaných suspenzí dubiózní, potom se musí provést další subkultivace a vyšetřeny do té doby, než je získán jednoznačný výsledek.

PŘÍLOHA B

Inaktivační postup pro substance ptačího původu: mikroorganismy, pro které musí být prokázáno, že došlo postupem k inaktivaci

Nemusí být prokázáno, že inaktivační postup inaktivuje některý z dále uvedených mikroorganismů, jestliže se tento mikroorganismus (tyto mikroorganismy) nevyskytuje (nevyskytují) v zemi původu substance.

KUŘECÍ PŮVOD

Ptačí adenovirus

Virus encefalomyelitidy ptáků

Viry leukózy ptáků

Virus nefritidy ptáků

Ptačí paramyxoviry

Ptačí reovirus

Původce anémie kuřat

Virus syndromu poklesu snášky vajec 76

Virus neštovic drůbeže

Virus hemoragické enteritidy

Virus infekční bronchitidy

Virus infekční bursitidy

Virus infekční laryngotracheitidy

Influenza A virus

Virus Markovy choroby

Newcastleská choroba

Virus reticuloendotheliosis

Virus rinotracheitidy krocanů

PŘÍLOHA C

Specifikace protilátky pro séra použitá v testování cizích původců

- C1. Je přijato, aby šarže séra byly použity v testování cizích původců buď k neutralizaci vakcinačního viru (šarže matečného inokula viru nebo šarže vakcíny) nebo jako přídavek ke kultivačním médiím, použitým k pomnožení tkáňové kultury. U všech takových sér musí být prokázáno vhodnými citlivými testy, že jsou prostá protilátek vůči následujícím mikroorganismům, jestliže se mikroorganismus (mikroorganismy) vyskytuje (vyskytují) v zemi původu kuřat použitých pro přípravu sér a, jestliže je to vhodné, vůči izolátu použitému k imunizaci:

Ptačí adenovirus

Virus encefalomyelitidy ptáků

Viry leukózy ptáků

Virus nefritidy ptáků

Ptačí paramyxoviry

Ptačí reovirus

Původce anémie kuřat

Původce virové enteritidy kachen

Virus 1, 2 hepatitidy kachen

Virus syndromu poklesu snášky vajec 76

Virus neštovic drůbeže

Virus infekční bronchitidy

Virus 1, 2 infekční bursitidy

Virus infekční laryngotracheitidy

Influenza viry

Virus 1, 2 a 3 Markovy choroby

Newcastleská choroba

Virus reticuloendotheliosis

Virus rinotracheitidy krocanů

- C2. Šarže neimunního séra pro přidání do kultivačních médií mohou být považovány za prosté protilátek proti některému z těchto virů, jestliže je o mikroorganismu známo, že neinfikuje živočišný druh původu séra. Šarže imunního séra pro neutralizaci viru mohou být považovány za prosté protilátek proti některému z těchto virů, jestliže může být prokázáno, že imunizující antigen nemohl být kontaminován antigeny získanými z tohoto viru a jestliže je o viru známo, že neinfikuje živočišný druh původu séra.

PŘÍLOHA D

Požadavky pro hejna SPF kuřat

- D1. Kde jsou požadována hejna drůbeže specifikovaného patogena prostá (SPF), musí tato splňovat požadavky, které jsou pro tato hejna stanoveny v „General Monograph For Veterinary Vaccines“ Evropského lékopisu.
- D2. Hejna musí být také vyšetřena na CAA. Nebude požadován žádný postup, jestliže se obdrží pozitivní výsledek. Avšak živé vakcíny připravené v materiálu z SPF hejn pro použití u ptáků mladších 7 dnů musí být připraveny z materiálu získaného z CAA negativních hejn. Inaktivované vakcíny pro použití u ptáků mladších 7 dnů mohou být připraveny z materiálu pocházejícího z hejn, u kterých nebylo prokázáno, že jsou prostá CAA s podmínkou, že bylo prokázáno, že inaktivační postup inaktivuje CAA.
- D3. Trvalé záznamy o mortalitě a o výsledcích testování hejna musí být uchovávány po nejméně pět let. Podrobnosti o každém zhoršení v produkci vajec nebo líhnivosti a o každém výsledku vyšetřování, které poukazuje na infekci specifikovaným původcem, musí být okamžitě předány uživateli vajec.
- Držitel povolení obchodování je zodpovědný za informování příslušných úřadů o každé takové příhodě, která by mohla ublížit kvalitě produktu.
- D4. Vzorky reagensů a substancí (včetně pozitivního kontrolního materiálu) použité v testování hejna musí být k dispozici a, jestliže jsou požadovány, musí být na základě požadavku zaslány příslušným úřadům.