

ADSORBED DIPHtheria VACCINE

1. Definition and property

Adsorbed Diphtheria vaccine is a preparation of diphtheria toxoid prepared by treating diphtheria toxin with formaldehyde to render it nontoxic without losing its immunogenic potency. The toxoid is adsorbed on to aluminium or calcium salt gel. It is a whitish, turbid homogeneous suspension when it shakes.

2. Production control

2.1. Strain of *Corynebacterium diphtheriae* : *Corynebacterium diphtheriae* Park-Williams No.8 or any other strains with equivalent or higher toxinogenicity shall be used.

2.2. Seed lot system : The production of diphtheria toxin shall be based on seed lot system.

2.3. Culture medium for production of toxin : Culture medium for production of toxin shall be free from substances likely to cause toxic or allergic reactions in human.

2.4. Filtration of cultured medium : Cultures of *C. diphtheriae* after incubation shall be tested for bacterial purity by microscobic examination or by inoculation into appropriate culture media. The culture shown to be free from any contaminant microorganisms shall be filtered through a filter capable of yielding bacteriologically sterile filtrate.

The Lf value of the filtrate shall be no less than 50/ml.

2.5. Detoxification and purification of toxin : Formaldehyde shall be used for detoxification. Purification shall either proceed or follow detoxification. The preparation containing purified toxoid shall serve as a bulk purified toxoid.

3. Control of Bulk Purified Toxoid

3.1. Antigenic Purity Test : When the bulk purified toxoid is tested for protein nitrogen content by the method given in the General test Section, the Lf value of toxoid per mg of protein nitrogen shall be no fewer than 1500/ml.

3.2. Sterility Test : The test given in General test Section shall apply.

3.3. Specific Toxicity Test : The bulk purified toxoid shall be tested for the presence of diphtheria toxin by injection into at least five guinea pigs each weighing 250 - 350 gr. Each guinea pig shall be given a subcutaneous injection of 1 ml of a dilution of purified toxoid containing at least 500 Lf of toxoid.

ADSORBE DİFTERİ AŞISI

1. Tanımı ve niteliği

Adsorbe difteri aşısı, difteri toksininin immunojenik aktivitesi kaybolmayacak şekilde formaldehit ile muamele edilerek toksoid haline dönüştürülmüştür. Hazırlanan bir üründür. Toksoid alüminyum veya kalsiyum tuzu ile adsorbe edilir. Beyazımsı, çalkalandığında bulanık homojen bir suspanzyondur.

2. Üretim kontrolü

2.1. *Corynebacterium diphtheriae* suşu : *Corynebacterium diphtheriae* Park-Williams No: 8 veya toksinojenitesi buna eşit veya daha yüksek diğer bir suş kullanılmalıdır.

2.2. Tohum Kültürü Sistemi: Difteri toksininin üretimi tohum kültür sistemi esasına dayanmalıdır.

2.3. Toksin üretimi için kültür besiyeri : Toksin üretimi için kullanılan besi yeri insanlarda allerjik ve toksik etkiye neden olabilecek maddeler içermemelidir.

2.4. Kültür besiyerinin filtrasyonu : İnkübasyondan sonra *C. diphtheriae* kültürleri uygun bir kültür vasatına ekim yapmak ya da mikroskopik inceleme suretiyle bakteriyel saflık yönünden kontrol edilmelidir. Mikrobiyal kontaminasyon içermeyen kültür bakteriyolojik steril filtrat elde edilecek şekilde süzülmalıdır.

Süzüntünün Lf değeri 50/ml'den az olmamalıdır.

2.5. Toksinin Detoksifikasyon ve Purifikasyonu : Detoksifikasyon için formaldehit kullanılmalıdır. Purifikasyon, detoksifikasyondan önce ya da sonra yapılmalıdır. Purifiye toksoid içeren ürün, purifiye bulk toksoid olarak isimlendirilir.

3. Bulk Purifiye Toksoidin Kontrolü

3.1. Antijenik Saflık Testi : Genel Testler Bölümünde verilen metodla protein nitrojen miktarı tayin edildiğinde toksoidin protein nitrojeninin her mg'daki Lf değeri 1500'den az olmamalıdır.

3.2. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümünde verilmiş olan test uygulanır.

3.3. Spesifik Toksikite Testi : Bulk purifiye toksoidin difteri toksini içerip içermediği 250-350gr. ağırlığında en az 5 kobaya enjeksiyon yapılmak suretiyle kontrol edilmelidir. Her bir kobaya en az 500 Lf toksoid ihtiva eden purifiye toksoid dilüsyonundan deri altı yolla 1 ml enjekte edilmelidir.

The inoculated animals shall be observed for at least 42 days.No animal shall die due to intoxication,or show any of such specific symptoms of intoxication as necrosis,paralysis,decrease in body weight,or any other abnormal sign during the observation period.

3.4. Irreversibility Test of Toxoid : An aliquot of the bulk purified toxoid shall be diluted with an appropriate buffered isotonic solution so as to contain the same concentration of toxoid as the final product.The diluted bulk purified toxoid shall be divided into two equal parts, and one of them shall be kept at 5 ± 3 °C and the other 37 °C for 3 weeks.The both test samples shall be injected subcutaneously at a dose of 5 ml into at least five guinea pigs weighing 250 - 350 gr.The inoculated animals shall be observed for at least 42 days.

No animal shall die or show any specific symptoms of intoxication during the observation period.

4. Control of Final Bulk

The bulk purified toxoid shall be diluted in a buffered isotonic sodium chloride solution or any other suitable medium and added with an aluminium or calcium salt The Lf value in a single human dose shall not exceed 30. Thimerosal shall be added at 0.01 w/v %. Any appropriate stabilizing agent may be added.

The final bulk shall be subjected to tests given below.

4.1. Test for Thimerosal Content : When the test given in General Test Section is applied,the thimerosal content shall be no higher than 0.0115 w/v % but no less than 0.0085 w/v % .

4.2. Test for Aluminium or Calcium Content : When the test given in General Test Section is applied,the aluminium or calcium contents shall be no higher than 1.25,1.3 mg per human dose respectively.

4.3. Test for Hydrogen Ion Concentration : When the test given in General Test Section is applied, the pH shall be within a range between 6.0 and 7.0.

4.4. Sterility Test : The test given in General Test Section shall apply.

4.5. Inocuity Test : The test given in General Test Section shall apply.

4.6. Test for Formaldehyde Content : When the test given in General Test Section is applied, the formaldehyde content shall be no higher than 0.02 w/v %.

5. Control of Final Product

The final product shall be subjected to tests given below.

5.1. Test for Hydrogen Ion Concentration : When the test given in General Test Section is applied,the pH shall be within a range between 6.0 and 7.0.

Bu hayvanlar en az 42 gün gözlem altında tutulmalıdır.Hiç bir hayvan gözlem süresince toksik etkiden ölmemei ve nekroz,paraliz, vücut ağırlığında azalma ya da normal olmayan belirtiler gibi intoksikasyona bağlı herhangi bir spesifik semptom göstermemelidir.

3.4. Toksikiteye Dönüşüm Testi : Bulk purifiye toksoid final üründeki toksoid konsantrasyonuna eşit olacak şekilde uygun bir izotonik buffer solusyonuyla dilue edilmelidir.Dilue bulk purifiye toksoid iki eşit kısma ayrılır, bunlardan birisi 5 ± 3 °C de diğeri 37 °C de üç hafta tutulmalıdır.Her iki toksoid 250-350 gr.lık en az 5'e kobayın her birine 5'er ml deri altı yolla enjekte edilir.Bu hayvanlar en az 42 gün süreyle gözlem altında tutulur.

Gözlem süresi içinde hiçbir hayvan ölmemei ve intoksikasyona bağlı herhangi bir semptom göstermemelidir.

4. Final Bulk in Kontrolu

Bulk purifiye toksoid izotonik sodyum klorür buffer solusyonu veya herhangi uygun bir besi yeri ile dilue edilir ve alüminyum veya kalsiyum tuzu eklenir. Lf miktarı bir insan dozunda 30'dan fazla olmamalıdır.Thimerosal % 0.01 w/v olacak şekilde ilave edilmelidir.Uygun herhangi bir stabilizan madde ilave edilebilir. Final bulkta aşağıda belirtilen testler uygulanmalıdır.

4.1. Thimerosal Miktar Tayini Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında thimerosal miktarı % 0.0115 w/v den yüksek ve % 0.0085 w/v den düşük olmamalıdır.

4.2. Alüminyum veya Kalsiyum Miktar Tayini Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında bir insan dozundaki alüminyum miktarı 1.25 mg.dan ve kalsiyum miktarı ise 1.3 mg.dan fazla olmamalıdır.

4.3. pH Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır. pH 6.0 ve 7.0 arasında olmalıdır.

4.4. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

4.5. Zararsızlık Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

4.6. Formaldehit Miktar Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında formaldehit miktarı % 0.02 w/v den yüksek olmamalıdır.

5. Final Ürün Kontrolu

Son üründen aşağıda verilen testler uygulanmalıdır.

5.1. pH Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır. pH 6.0 ve 7.0 arasında olmalıdır.

5.2. Test for Formaldehyde Content : When the test given in General Test Section is applied, the formaldehyde content shall be no higher than 0.02 w/v %.

5.3. Test for Thimerosal Content : When the test given in General Test section is applied, the thimerosal content shall be no higher than 0.0115 w/v% but no less than 0.0085 w/v %.

5.4. Sterility Test : The test given in General Test Section shall apply.

5.5. Immunity Test : The test given in General Test Section shall apply.

5.6. Specific Toxicity Test : Five times the single human dose of the final product shall be injected subcutaneously into at least five guinea pigs each weighing 250 - 350 gr. The inoculated animals shall be observed for at least 42 days.

No animal shall die or show any specific symptoms due to intoxication during the observation period.

5.7. Potency Test: The potency shall be measured in guinea pigs by toxin challenge or in mice by the antitoxin titration method.

5.7.1. Toxin Challenge Method :

5.7.1.1. Materials: The test sample, Standard Adsorbed Diphtheria Toxinoid (hereafter referred to as "Standard") and an appropriate solution of toxin shall be used. The test sample and the Standard shall be diluted with isotonic sodium chloride solution and the toxin with a suitable diluent.

5.7.1.2. Test Procedures: The test sample and the Standard shall be diluted serially at equal logarithmic intervals, respectively. Each dilution shall be injected subcutaneously at least 10 guinea pigs each weighing 250-350 gr at a dose of 1 ml. The animals shall be challenged with approximately 50 LD₅₀ of toxin at a dose of 1 ml. 4-6 weeks after immunizing injection. The challenged animals shall be observed for 7 days.

The toxin used for challenge shall be titrated by injecting with each of at least three serial dilution into at least three animals aged the same as the immunized animals. The challenge toxin shall contain approximately 25-100 LD₅₀ per inoculum.

5.7.1.3. Criterion for judgment: The limit of the 95% confidential intervals of the estimate of potency shall be within 50-200% of the estimated potency and the lower limit of confidential interval shall be no less than 30 IU per single human dose..

5.7.2. Antibody Titration Method : Antitoxin content of serum shall be titrated by the cell culture method or passive haemagglutination method.

5.7.2.1. Materials : The test sample, the Standard and Standard Diphtheria Antitoxin and a toxin with a known binding capacity shall be used.

5.2. Formaldehit Miktar Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında formaldehit miktarı % 0.02 w/v den yüksek olmamalıdır.

5.3. Thimerosal Miktar Tayini Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında thimerosal miktarı % 0.0115 w/v den yüksek ve % 0.0085 w/v den az olmamalıdır.

5.4. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

5.5. Zararsızlık Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

5.6. Spesifik Toksikite Testi : Final ürünün 5 insan dozu herbiri 250-350 gr. ağırlığındaki en az 5 kobaya deri altı yolla enjekte edilir. Hayvanlar en az 42 gün süreyle gözlem altında tutulur.

Gözlem süresince hiçbir hayvan ölmemeli ve intoksikasyona bağlı herhangi bir spesifik semptom gözlenmemelidir.

5.7. Potens Testi : Potens kobaylarda toksin challenge metodu ya da farelerde antitoksin titrasyon metodu uygulanarak ölçülmelidir.

5.7.1. Toxin Challenge Metodu :

5.7.1.1. Materyal: Test edilecek toksoid, standart adsorbe difteri toksoidi (daha sonra "standart" olarak ifade edilecektir) ve uygun bir toksin solusyonu kullanılmalıdır. Test toksoid ve standart fizyolojik tuzlu su solusyonu ile toksinde uygun bir çözücü ile dilüe edilir.

5.7.1.2. Testin Uygulanışı : Test toksoid ve standardın logaritmik aralıklarla dilüsyonları yapılır. Her dilüsyon her biri 250-350 gr.lık 10'ar kobaya 1'er ml deri altı yolla enjekte edilir. İmmünizasyondan 4-6 hafta sonra kobaylar yaklaşık 50 LD₅₀ toksinin 1 ml. dozuyla enjekte edilirler. Bu hayvanlar 7 gün süreyle gözlem altında tutulurlar.

Challenge için kullanılan toksin en az 3 seri dilüsyon şeklinde immünize edilen hayvanlarla aynı yaşta en az 3 hayvana enjekte edilmek suretiyle kontrol edilir. Challenge toksininin her enjeksiyon dozu yaklaşık 25-100 LD₅₀ toksin içermelidir.

5.7.1.3. Karar Kriterleri : Tespit edilen potens değerinin % 95 güvenlik limitleri, bulunan potens değerinin % 50-200 sınırları içinde olmalıdır ve güvenlik limitlerinin en düşük değeri bir insan dozunda 30 IU' den az olmamalıdır.

5.7.2. Antibody Titrasyon Metodu : Serumdaki antitoksin miktarı doku kültürü metodu ya da pasif hemaglutinasyon metodu ile tayin edilir.

5.7.2.1. Materyal : Test toksoid, standart toxoid standart difteri antitoksini ve bağlama kapasiteleri bilinen difteri toksini kullanılmalıdır.

The test sample and the standard toxoid shall be diluted with isotonic sodium chloride, and the Standard Antitoxin and the toxin with a suitable diluent. When the passive haemagglutination method is used, red blood cells shall be sensitized with highly purified diphtheria toxin or toxoid.

5.7.2.2. Test Procedures: The test sample and the Standard shall be diluted serially at equal logarithmic intervals, respectively. Each dilution shall be injected subcutaneously at least 10 mice aged 5 weeks at a dose of 0.5 ml.

Antitoxin content of serum from each animal shall be determined 4-6 weeks after immunization.

5.7.2.3. Criterion for Judgement: The criterion given in 5.8.1.3. shall apply.

5.8. Identity Test: An adequate amount of the final product is solubilized by dissolving sufficient sodium citrate to give 10 per cent solution, and maintained at 37 °C for 16 h. After the incubation, the solubilized final product is centrifuged until a clear supernatant is obtained. The clear liquid shall be checked by flocculation testing with a suitable diphtheria antitoxin.

6. Storage and dating period:

The final product shall be stored at temperature of 5 ± 3 °C. The dating period shall not be more than 3 years after the date of the last satisfactory potency test, i.e. the date on which the animals were immunized with the vaccine.

Test toksoid ve standard toksoid izotonik NaCl solusyonu ile, standard antitoksin ve toksin ise uygun bir çözücü ile dilüe edilir. Pasif hemaglutinasyon metodu kullanıldığında alyuvarlar yüksek düzeyde pürifiye edilmiş difteri toksini veya difteri toksoidi ile duyarlı hale getirilmelidir.

5.7.2.2. Testin Uygulanışı: Sırasıyla Test toksoid ve standard'ın uygun logaritmik aralıklarla seri dilusyonları hazırlanır. Her bir dilusyondan 5 haftalık en az 10 fareye 0.5 ml. miktarında enjekte edilir.

Her bir hayvan serumundaki antitoksin miktarı immünizasyondan 4-6 hafta sonra test edilir.

5.7.2.3. Karar Kriterleri: 5.8.1.3. de verildiği şekilde yapılır.

5.8. Identity Testi: Final ürünün uygun miktarı adjuvanı elimine etmek amacıyla % 10 w/v olacak şekilde sodyum sitratla çözülmeli ve 37 °C ' de 16 saat süreyle inkübasyona bırakılmalıdır. Inkübasyondan sonra eriyebilen final ürün berrak bir supernatant elde edilmeye değin santrifüje edilmelidir. Elde edilen berrak sıvıda uygun bir difteri antitoksini ile flokülasyon testi uygulanmalıdır.

6. Saklama ve Kullanma Süresi:

Final ürün 5 ± 3 °C 'de muhafaza edilmelidir. Ürünün son kullanma tarihi, uygun olan son potens testinin uygulanmasından (deney hayvanlarının immünize edildikleri tarihten) itibaren 3 yılı geçmemelidir.

PERTUSSIS VACCINE

1. Definition and property

Pertussis vaccine is a suspension of the whole cells of one or more strains of killed *Bordetella pertussis*. It is a whitish turbid homogenous suspension when it shakes.

2. Production control

2.1. Strains of *Bordetella pertussis* : Strains of *Bordetella pertussis* use for preparing vaccines shall be chosen in such a way that the final vaccine includes agglutinogens 1,2 and 3.

2.2. Seed lot system : The production of pertussis vaccine shall be based on a seed lot system. Cultures of working seed shall have the same characteristics as the strain from which the parent seed lot was derived.

2.3. Culture medium for production of bacteria : The medium use for cultivation of bacteria shall not contain blood, blood products and any other ingredient possibly inducing pronounced allergic reaction in human.

2.4. Suspension of bacteria : The cultured bacteria shall be tested for purity by microscopic examination or by an appropriate culture method before killing bacteria. When no contaminant is detected, the suspension of bacteria shall serve as a single strain suspension.

2.4.1. Test for bacterial content : Before the step of 2.5. the opacity of each single strain suspension shall be measured by applying the test for optical density given in General Test Section. The optical density of the test material containing 10×10^9 of bacteria per ml shall correspond to 10 opacity units.

2.5. Killing and detoxification : The bacteria in a single strain suspension shall be killed and detoxified by means of a suitable chemical agent or by heating or by a combination of these two methods. After completion of killing and detoxification, the suspension shall serve as a single strain bulk.

The single strain bulk shall be subjected to tests given below.

2.5.1. Agglutination Test : The test sample shall be diluted adequately and tested for agglutinability. The organisms shall be agglutinated by an antiserum against the heat labile agglutinin, and hardly agglutinated by an antiserum against the heat stable agglutinin of bacteria.

BOĞMACA AŞISI

1. Tanımı ve Niteliği

Boğmaca aşısı, öldürülmüş *Bordetella pertussis* suş veya suşlarının tam hücre süspansiyonudur. Çalkulandığında beyazımtırak renkte, bulanık homojen bir süspansiyondur.

2. Üretim Kontrolü

2.1. *Bordetella pertussis* suşu : Aşının hazırlanmasında kullanılacak olan *B. pertussis* suşları, final aşının 1,2 ve 3 no.lu agglutinojenlerini ihtiva edeceği şekilde seçilmelidir.

2.2. Tohum Kültürü Sistemi: Boğmaca aşısının üretimi, tohum kültürü sistemi esasına dayanmalıdır. Çalışılan tohum kültürleri, orjinal tohum kültüründen elde edilen suşlar ile aynı özelliklere sahip olmalıdır.

2.3. Bakteri üretimi için kültür vasatı : Bakteri üretimi için kullanılan vasat, kan, kan ürünleri ve insanlarda alerjik reaksiyonlar oluşturmaya muhtemel hiç bir yabancı madde ihtiva etmeyecektir.

2.4. Bakteri süspansiyonu : Kültürü yapılan bakteri, saflık yönüyle mikroskopik muayene veya uygun bir kültür metodu ile öldürme işlemi öncesinde testi edilmelidir. Herhangi bir kontaminasyon saptanmadığında, bakteri süspansiyonu tek suş süspansiyonu olarak muhafaza edilir.

2.4.1. Bakteri sayımı : 2.5. de açıklanan işlem öncesinde tek suş süspansiyonlarının herbiri için bakteri içeriği (opasitesi), Genel Testler Bölümü'nde açıklanan optikal dansite testi uygulanarak saptanmalıdır. 10 opasite ünite'lik standard'la karşılaştırılarak yapılan işlemde test materyalinin optikal dansitesi, her ml'de 10×10^9 bakteri ihtiva edecek şekilde ayarlanmalıdır.

2.5. Öldürme ve detoksifikasyon : Tek suş süspansiyonu'nda bulunan bakteriler, uygun kimyasal ajan veya ısıya ya da her iki metodun birarada uygulanmasıyla öldürülmeli ve detoksifiye edilmelidir. Öldürme ve detoksifikasyon işlemlerinin tamamlanmasından sonra süspansiyon tek suş bulku olarak hazırlanmış olur.

Tek suş bulku aşağıda açıklanan testlere tabi tutulur.

2.5.1. Agglutinasyon Testi : Test edilecek numune, yeterli oranda sulandırılır ve agglutinasyon gücü yönüyle kontrol edilir. Mikroorganizmalar antiserumla ısıya duyarlı agglutinojenlerine karşı güçlü ve ısıya dayanıklı agglutinojenlerine karşı hafif düzeyde agglutinasyon oluşturmazdır.

2.5.2. Sterility Test : The test given in General Test Section shall be applied.

2.5.3. Test for freedom from live Bordetella pertussis : Freedom from live B.pertussis shall be tested by culturing on Bordet-Gengou medium or any other suitable media.No growth of bacteria shall be observed.

3. Control of Final Bulk

The single strain bulks shall be mixed to make the final bulk.

The concentration of bacteria in the final bulk shall correspond to an opacity (before killing) of not more than 20 opacity units in a single human dose and added with an aluminium salt.

Thimerosal shall be added at 0.01 w/v %.

The final bulk shall be subjected to the following tests.

3.1. Test for agglutinogens :The final bulk shall be diluted adequately and tested for agglutinability by using specific antisera against agglutinogens 1,2 and 3.

3.2.Test for Thimerosal content : When the test given in General test Section is applied,the thimerosal content shall be not higher than 0.0115 w/v % but not less than 0.0085 w/v %.

3.3. Test for aluminium content : When the test in General Test Section is applied,the aluminium content shall be no higher than 1.25 mg. per single human dose.

3.4. Sterility Test :The test given in General Test section shall be applied.

3.5. Test for mouse body-weight gain :

The mouse body-weight gain test shall be performed as follow.

No fewer than 10 healthy mice each aged 4 weeks shall be used for each sample and for saline control.The test sample shall be injected intra-peritoneally at a dose of not less than half the volume recommended as a single human dose.A control group of mice shall be injected the same dose of physiological saline as that of the test sample.The injected mice shall be observed for 7 days.

The mean body weight 3 days after injection shall be not less than that at the time of injection upon statistical comparison of the results.

At the end of 7 days, the mean body-weight gain per mouse shall not less than 60 % of that of the control group of mice upon statistical comparison of the results, and not more than 5 % of the total number of injected mice shall die.

3.6. Immunity Test : The test given in General Test Section shall be applied.

2.5.2. Sterility Test : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı tarzda uygulanır.

2.5.3. Canlı Bordetella pertussis yokluğu testi : Bulk, canlı B.pertussis'in yokluğu yönüyle,Bordet-Gengou vasatı veya diğer uygun bir vasatta kültürü yapılarak kontrol edilir.Hiçbir şekilde bakteriyüremesi gözlenmemelidir.

3. Final Bulk Kontrolü

Tek suş bulguları final bulk'i elde etmek üzere karıştırılır.

Final bulk'taki bakteri yoğunluğu,bir insan dozunda 20 opasite ünite'den daha fazla olmayacak tarzda, öldürme işlemi öncesindeki opasite doğrultusunda ayarlanmalı ve alüminyum tuzu ilave edilmelidir.

Thimerosal % 0.01 w/v oranında eklenmelidir.

Böylece hazırlanmış olan final bulk, aşağıda belirtilen testlere izbi tutulur.

3.1. Agglutinogenlerin kontrolü : Final bulk uygun oranda sulandırılmalı ve spesifik antiserum kullanılarak 1,2 ve 3 no.lu agglutinogenlere karşı agglutinasyon gücü kontrol edilmelidir.

3.2. Thimerosal miktar tayini : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır.Thimerosal miktarı, % 0.0085 w/v den az ve % 0.0115 w/v den fazla olmamalıdır.

3.3. Alüminyum miktar tayini : Genel Testler Bölümü'nde verilen test uygulandığında alüminyum miktarı bir insan dozunda 1.25 mg.dan daha fazla olmamalıdır.

3.4. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır.

3.5. Fare Ağırlık Kazanım Testi :

Fare ağırlık kazanım testi aşağıda açıklandığı şekilde uygulanır.

Test edilecek numunelerin her biri ve fizyolojik tuzlu su kontrolü için sağlıklı,4 haftalık en az 10 fare kullanılır.Numune önerilen bir insan dozunun yansından az olmayacak miktarda farelere periton içi yolla zerk edilir. Kontrol grubu farelerine de aynı dozda ve aynı yolla fizyolojik tuzlu su zerk edilir.Enjekte edilen fareler 7 gün gözetim altında bulundurulur.

Enjeksiyondan 3 gün sonra,farelerin vücut ağırlıkları ortalaması,sonuçların istatistikli olarak karşılaştırılmasında zerk gününe oranla daha az olmamalıdır

7 günlük gözetim süresi bitiminde ise,her bir fare için kazanılan ağırlık ortalaması,sonuçların istatistikli olarak karşılaştırılmasında kontrol grubu farelerinin % 60'ından daha az olmamalıdır. Ayrıca zerk edilen farelerde %5'den fazla ölüm görülmemelidir.

3.6. Zararsızlık Testi : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır.

4. Control of Final Product

The final product shall be subjected to tests given below.

4.1. Test for hydrogen ion concentration :

When the test given in General test section is applied, the pH shall be within a range between 6.7 and 7.3.

4.2. Test for Thimerosal content : When the test given in General Test Section is applied, the thimerosal content shall be not higher than 0.0115 w/v % but not less than 0.0085 w/v %.

4.3. Test for aluminium content : When the test in General Test Section is applied, the aluminium content shall be no higher than 1.25 mg. per single human dose.

4.4. Test for Sterility : The test given in General Test Section shall be applied.

4.5. Innocuity Test : The test given in General Test Section shall be applied.

4.6. Test for mouse body-weight gain : The test given in 3.4. shall be applied.

4.7. Potency Test : The potency shall be determined in mice by the intracerebral challenge method.

4.7.1. Materials : The test sample, Standard Pertussis Vaccine and strain 18323 of B.pertussis for challenge shall be used. The diluent for the test sample and Standard shall be 0.013 M phosphate buffered sodium chloride solution (pH 7.0) or saline.

The challenge strain shall be cultured on Border-Gengou medium for about 24 hours and suspended in 1.0 w/v % of casein peptone solution containing 0.6 w/v % of sodium chloride (pH 7.1 \pm 0.1) to a concentration of about 200 LD₅₀ per 0.025 ml to serve as the suspension for challenge (here after referred to as "challenge suspension").

4.7.2. Test procedures : The test sample and the standard shall be so diluted as to make at least three levels of five fold or other suitable logarithmic serial dilutions, respectively.

Each dilution shall be injected intraperitoneally at a dose of 0.5 ml. into at least 16 mice each aged 4 weeks. The animals shall be of the same sex or both sexes in the equal numbers. On day 14 after immunizing injection, the animals shall be injected intracerebrally at a dose of 0.025 ml of the challenge suspension. The challenged animals shall be observed for 14 days. Any animal dying within 3 days after challenge shall be exclude from the test. Any animal showing paralysis or swelling of the head at the end of the observation period shall be included in deaths.

4. Final Ürün Kontrolü

Final ürün aşağıda açıklanan testlere tabi tutulur.

4.1. pH Tayini :

Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır. Final üründe pH 6.7 ile 7.3 değerleri arasında olmalıdır

4.2. Thiomersal Miktar Tayini : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır. Thiomersal miktarı % 0.0085 w/v den az ve % 0.0115 w/v den fazla olmamalıdır.

4.3. Alüminyum miktar tayini : Genel Testler Bölümü'nde verilen test uygulandığında alüminyum miktar bir insan dozunda 1.25 mg. dan daha fazla olmamalıdır.

4.4. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır.

4.5. Zararsızlık Testi : Genel Testler Bölümü'nde açıklandığı şekilde uygulanır.

4.6. Fare Ağırlık Kazanım Testi : 3.4. de açıklandığı şekilde uygulanır.

4.7. Potans Testi : Final ürünün potensi farelerde intra-cerebral challenge metodu ile tayin edilmelidir.

4.7.1. Materyal : Test edilecek numune, Standard Boğmaca Aşısı ve Challenge suşu olarak da 18323 no.lu B.pertussis suşu kullanılmalıdır. Numune ve Standard aşının sulandırılmasında 0.013 M phosphate buffered Na Cl (pH 7.0) veya Fizyolojik Tuzlu Su kullanılmalıdır.

Challenge suşunun Border-Gengou besi yerindeki yaklaşık 24 saatlik kültürü, % 0.6 w/v NaCl ihtiva eden % 1'lik Casein peptone solusyonu (pH 7.1 \pm 0.1) ile 0.025 ml. de yaklaşık 200 LD₅₀ lik bir konsantrasyon oluşturacak tarzda suspanse edilir. Şu andan itibaren hazırlanan bu suspansiyondan "challenge suspansiyonu " olarak sözedilecektir.

4.7.2. Testin Yapılışı : Sırasıyla Test edilecek numune ve Standard'ın her biri için, en az üçlü seviyede 5 katlı veya diğer uygun logaritmik seri dilusyonları hazırlanır.

Her bir dilusyondan, 4 haftalık en az 16 fareye periton içi yolla 0.5 ml. zerk edilir. Deneş hayvanları aynı sex'den veya her iki sex'den olması durumunda eşdeğer sayılarda olmalıdır. İmmünizasyondan 14 gün. sonralarlar intracerebral olarak challenge suspansiyonu ile 0.025 ml.lik dozda zerk edilir. Challenge sonrasında hayvanlar 14 gün süreyle gözetim altında bulundurulur. Challenge işleminden sonraki ilk 3 gün içinde oluşan ölümler testin değerlendirilmesinde dikkate alınmaz. Gözetim süresi sonunda felç veya baş bölgesinde şişkinlik gösteren hayvanlar ölü olarak değerlendirilir.

Each of at least three appropriate serial dilutions of the challenge suspension shall be injected into at least 10 mice of about 6 weeks of age to titrate the virulence. The LD₅₀ per 0.025 ml of the challenge suspension shall be 50 - 400. The viable count in the challenge suspension obtained by culturing on Bordet-Gengou medium shall be about one fourth of the total bacteria count estimated by applying the method given in 2.4.1.

4.6.3. Criterion for judgement :

The estimated potency of the test sample shall be not less than 4.0 IU in the volume recommended for a single human dose and the lower confidence limit of 95 % probability shall be not less than 2.0 IU.

4.7. Identity Test :

Agglutination of the organisms with the specific anti-pertussis sera shall be served as an identity test.

5. Storage and dating period :

The final product shall be stored at a temperature of 5 ± 3 °C. The dating period shall not be more than 2.5 years after the date of the last satisfactory potency test, i.e. the date on which the animals were immunized with the vaccine.

Diğer taraftan challenge suspansiyonunun en az üçlü seviyede uygun seri dilusyonları hazırlanarak, virülens tayini amacıyla her bir dilusyondan 6 haftalık en az 10 fareye enjeksiyon yapılır. Challenge suspansiyonunun LD₅₀'si 0.025 ml.de 50 - 400 arasında olmalıdır. Challenge suspansiyonunun Bordet-Gengou besi yerinde kültürü ile elde edilen canlı bakteri sayısı 2.4.1.de açıklanan metotla hesaplanan total bakteri sayısının yaklaşık dörtte biri olmalıdır.

4.6.3. Karar için kriterler :

Test edilen numune için hesaplanan potens önerilen bir insan dozunda 4 IU' den az olmamalı ; % 95 olasılıkla hesaplanan güvenlik limitlerinde ise minimal güvenlik limiti 2 IU' den az olmamalıdır.

4.7. İdentite Testi :

Spesifik anti-pertussis serumu ile mikroorganizmaların agglutinasyonu identite testi olarak değerlendirilir.

5. Saklama koşulları ve kullanma süresi :

Final ürün 5 ± 3 °C 'de muhafaza edilmelidir. Ürünün son kullanma tarihi, sor potens testinin başarılı olarak uygulanmasından (deney hayvanlarının immünize edildikleri tarihten) itibaren 2.5 yılı geçmemelidir.

ADSORBED TETANUS VACCINE

1. Definition and property

Adsorbed Tetanus Vaccine is a preparation of tetanus toxoid prepared by treating tetanus toxin with formaldehyde to render it nontoxic without losing its immunogenic potency. The toxoid is adsorbed on to aluminium or calcium salt gel. It is a whitish, turbid homogeneous suspension when it shakes.

2. Production control

2.1. Strain of Clostridium tetani : Clostridium tetani Harvard strain or any other strains with equivalent or higher toxinogenicity shall be used.

2.2. Seed lot system : The production of tetanus toxin shall be based on a seed lot system.

2.3. Culture medium for production of toxin : Culture medium for production of toxin shall be free from substances likely to cause toxic or allergic reactions in human.

2.4. Filtration of cultured medium : Cultures of C. tetani after incubation shall be tested for bacterial purity by microscopic examination or by inoculation into appropriate culture media. The culture shown to be free from any contaminant microorganisms shall be filtered through a filter capable of yielding bacteriologically sterile filtrate. The Lf value of the filtrate shall be no less than 40/ml.

2.5. Detoxification and purification of toxin : Formaldehyde shall be used for detoxification. Purification shall either proceed or follow detoxification. The preparation containing purified toxoid shall serve as a bulk purified toxoid.

3. Control of Bulk Purified Toxoid

3.1. Antigenic Purity Test : When the bulk purified toxoid is tested for protein nitrogen content by the method given in the General test Section, the Lf value of toxoid per mg of protein nitrogen shall be no fewer than 1000.

3.2. Sterility Test : The test given in General test Section shall apply.

3.3. Specific Toxicity Test : The bulk purified toxoid shall be tested for the presence of tetanus toxin by injection into at least five guinea pigs each weighing 250 - 350 gr. Each guinea pig shall be given a subcutaneous injection of 1 ml of a dilution of purified toxoid containing at least 500 Lf of toxoid. The inoculated animals shall be observed for at least 21 days.

No animal shall die due to intoxication, or show any of such specific symptoms of intoxication as spasms, stiffing, marked decrease in body weight, or any other abnormal sign during the observation period.

ADSORBE TETANOS AŞISI

1. Tanımı ve niteliği

Adsorbe tetanos aşısı tetanos toksininin immunojenlik aktivitesi kaybolmayacak şekilde formaldehit ile muamele edilerek toksoid haline dönüşümüyle hazırlanan bir üründür. Toksoid alüminyum veya kalsiyum tuzları ile adsorbe edilir. Beyazımsı, çalkalandığında bulanık homojen bir suspansiyondur.

2. Üretim kontrolü

2.1. Clostridium tetani suşu : Clostridium tetani Harvard suşu veya toksinojenitesi buna eşit veya daha yüksek diğer bir suş kullanılmalıdır.

2.2. Tohum Kültürü Sistemi : Tetanos toksin üretimi, tohum kültür sistemi esasına dayanmalıdır.

2.3. Toksin üretimi için kültür besi yeri : Toksin üretimi için kullanılan besi yeri insanlarda allerjik ve toksik etkiye neden olabilecek maddeler içermemelidir.

2.4. Kültür besi yerinin filtrasyonu : İn-kübasyondan sonra C.tetani kültürleri uygun bir kültür vasatına ekim yapmak ya da mikroskopik inceleme suretiyle bakteriyel saflık yönünden kontrol edilmelidir. Mikrobiyal kontaminasyon içermeyen kültür bakteriyolojik steril filtrat elde edilecek şekilde süzülmelidir. Süzütünün Lf değeri 40/ml den az olmamalıdır.

2.5. Toksinin Detoksifikasyon ve Purifikasyonu : Detoksifikasyon için formaldehit kullanılmaktadır. Purifikasyon, detoksifikasyondan önce ya da sonra yapılmalıdır. Purifiye toksoid içeren ürün, purifiye buluk toksoid olarak isimlendirilir.

3. Bulk Purifiye Toksoidin Kontrolü

3.1. Antijenik Saflık Testi : Genel Testler Bölümünde verilen metotla protein nitrojen miktarı tayin edildiğinde toksoidin protein nitrojeninin her mg.daki Lf değeri 1000'den az olmamalıdır.

3.2. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümünde verilmiş olan test uygulanır.

3.3. Spesifik Toksikite Testi : Bulk purifiye toksoidin tetanos toksini içerip içermediği 250-350gr. ağırlığında en az 5 kobaya enjeksiyon yapılmak suretiyle kontrol edilmelidir. Her bir kobaya en az 500 Lf toksoid ihruva eden purifiye toksoid dilüsyonundan 1 ml deri aiti yolla enjekte edilmelidir. Bu hayvanlar en az 21 gün gözlem altında tutulmalıdır.

Hiç bir hayvan gözlem süresince toksik etkiden ölmemeli ve spazm, sertlik, vücut ağırlığında azalma ya da normal olmayan belirtiler gibi intoksikasyona bağlı herhangi bir spesifik semptom göstermemelidir.

3.4. Irreversibility Test of Toxoid : An aliquot of the bulk purified toxoid shall be diluted with an appropriate buffered isotonic solution so as to contain the same concentration of toxoid as the final product. The diluted bulk purified toxoid shall be divided into two equal parts, and one of them shall be kept at $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ and the other 37°C for 3 weeks. The both test samples shall be injected subcutaneously at a dose of 5 ml into at least five guinea pigs weighing 250 - 350 gr. The inoculated animals shall be observed for at least 21 days.

No animal shall die or show symptoms of specific paralysis or any other signs of tetanus during the observation period.

4. Control of Final Bulk

The bulk purified toxoid shall be diluted in a buffered isotonic sodium chloride solution or any other suitable medium and added with an aluminium or calcium salt. The Lf value in a single human dose shall not exceed 25. Thimerosal shall be added at 0.01 w/v %. Any appropriate stabilizing agent may be added.

The final bulk shall be subjected to tests given below.

4.1. Test for Thimerosal Content : When the test given in General Test Section is applied, the thimerosal content shall be no higher than 0.0115 w/v % but no less than 0.0085 w/v %.

4.2. Test for Aluminium or Calcium Content : When the test given in General Test Section is applied, the aluminium or calcium content shall be no higher than 1.25, 1.3 mg per human dose respectively.

4.3. Test for Hydrogen Ion Concentration : When the test given in General Test Section is applied, the pH shall be within a range between 6.0 and 7.0.

4.4. Sterility Test : The test given in General Test Section shall apply.

4.5. Innocuity Test : The test given in General test section shall apply.

4.6. Test for Formaldehyde Content : When the test given in General Test Section is applied, the formaldehyde content shall be no higher than 0.02 w/v %.

5. Control of Final Product

The final product shall be subjected to tests given below.

5.1. Test for Hydrogen Ion Concentration : When the test given in General Test Section is applied, the pH shall be within a range between 6.0 and 7.0.

5.2. Test for Formaldehyde Content : When the test given in General Test Section is applied, the formaldehyde content shall be no higher than 0.02 w/v %.

3.4. Toksikiteye Dönüşüm Testi : Bulk purifiye toksoid final üründeki toksoid konsantrasyonuna eşit olacak şekilde uygun bir izotonik buffer solüsyonuyla dilüe edilmelidir. Dilüe bulk purifiye toksoid iki eşit kısma ayrılır, bunlardan birisi $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ de diğeri 37°C de üç hafta tutulmalıdır. Her iki toksoid 250-350 gr.lık en az 5'er kobayın her birine 5'er ml deri altı yolla enjekte edilir. Bu hayvanlar en az 21 gün süreyle gözlem altında tutulur.

Gözlem süresi içinde hiçbir hayvan ölmemeli veya tetanoz toksikasyonuna bağlı spesifik paraliz veya herhangi bir semptom göstermemelidir.

4. Final Bulk'ın Kontrolü :

Bulk purifiye toksoid izotonik sodyum klorür buffer solüsyonu veya herhangi uygun bir besi yeri ile dilüe edilir ve amonyum veya kalsiyum tuzu eklenir. Lf miktarı bir insan dozunda 25'den fazla olmamalıdır. Thimerosal % 0.01 w/v olacak şekilde ilave edilmelidir. Uygun herhangi bir stabilizan madde ilave edilebilir.

Final bulkta aşağıda belirtilen testler uygulanmalıdır.

4.1. Thimerosal Miktar Tayini Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında thimerosal miktarı % 0.0115 w/v den yüksek ve % 0.0085 w/v den düşük olmamalıdır.

4.2. Alüminyum veya Kalsiyum Miktar Tayini Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında bir insan dozundaki alüminyum miktarı 1.25 mg. dan, kalsiyum miktarı ise 1.3 mg. dan fazla olmamalıdır.

4.3. pH Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında pH 6.0 ve 7.0 arasında olmalıdır.

4.4. Sterilite Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

4.5. Zararsızlık Testi : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

4.6. Formaldehit Miktar Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında formaldehit miktarı % 0.02 w/v den yüksek olmamalıdır.

5. Final Ürün Kontrolü

Son üründe aşağıda verilen testler uygulanmalıdır.

5.1. pH Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında pH 6.0 ve 7.0 arasında olmalıdır.

5.2. Formaldehit Miktar Tayini : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında formaldehit miktarı % 0.02 wv den yüksek olmamalıdır.

5.3. **Thimerosal Content** : When the test given in General Test section is applied, the thimerosal content shall be no higher than 0.0115 w/v% but no less than 0.0085 w/v %.

5.4. **Sterility Test** : The test given in General Test Section shall apply.

5.5. **Innocuity Test** : The test given in General Test Section shall apply.

5.6. **Specific Toxicity Test** : Five times the single human dose of the final product shall be injected subcutaneously into at least five guinea pigs each weighing 250 - 350 gr. The inoculated animals shall be observed for at least 21 days.

No guinea pig shall show symptoms of specific paralysis or any other signs of tetanus during the observation period.

5.7. **Potency Test** : The potency shall be measured in guinea pigs or in mice by toxin challenge method.

5.7.1. **Materials**: The test sample, Standard Adsorbed Tetanus Toxoid (hereafter referred to as "Standard") and an appropriate solution of toxin shall be used. The test sample and the Standard shall be diluted with isotonic sodium chloride solution and the toxin with a suitable diluent.

5.7.2. **Test Procedures**: The test sample and the Standard shall be diluted serially at equal logarithmic intervals, respectively. Each dilution shall be injected subcutaneously at least 10 guinea pigs each weighing 250-350 gr at a dose of 1 ml, or at least 10 mice aged 5 weeks at a dose of 0.5 ml. The guinea pigs shall be challenged with approximately 50 LD₅₀ of toxin at a dose of 1 ml, or mice shall be challenged with approximately 100 LD₅₀ of toxin at a dose of 0.5 ml. 4-5 weeks after immunizing injection. The challenged animals shall be observed for 7 days. The toxin used for challenge shall be titrated by injecting with each of at least 3 serial dilutions into at least three animals age the same as the immunized animals. The challenge toxin shall contain 25-100 LD₅₀ per inoculum for guinea pigs and 50-200 LD₅₀ per inoculum for mice.

5.7.3. **Criterion for judgment**: The limit of the 95% confidential intervals of the estimate of potency shall be within 50-200% of the estimated potency, and the lower limit of confidential interval shall be no less than 40 IU per single human dose.

5.8. **Identity Test** : An adequate amount of the final product is solubilized by dissolving sufficient sodium citrate to give 10 per cent solution, and maintained at 37°C for 16 h. After the incubation, the solubilized final product is centrifuged until a clear supernatant is obtained. The clear liquid shall be checked by flocculation test with a suitable tetanus antitoxin.

5.3. **Thimerosal Miktar Tayini Testi** : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulandığında thimerosal miktar % 0.0115 w/v den yüksek ve % 0.0085 w/v den düşük olmamalıdır.

5.4. **Sterilité Testi** : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

5.5. **Zararsızlık Testi** : Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

5.6. **Spesifik Toksikite Testi** : Son ürünün 5 insan dozu ,herbiri 250-350 gr. ağırlığındaki en az 5 kobaya deri altı yolla enjekte edilir. Hayvanlar en az 21 gün süreyle gözlem altında tutulur.

Çözlem süresince hiçbir hayvan spesifik felç ve herhangi bir tetanoz belirtisi göstermemelidir.

5.7. **Potens Testi** : Potens kobaylarda veya farelerde toksin challenge metodu uygulanarak ölçülmelidir.

5.7.1. **Materyal** : Test edilecek toksoid, standard adsorbe tetanoz toksoidi (daha sonra "standard" olarak ifade edilecektir) ve uygun bir toksin solusyonunu kullanılmalıdır. Test aşısı ve standard fizyolojik tuzlu su solusyonu ile toksinde uygun bir çözücü ile dilüe edilmelidir.

5.7.2. **Testin Uygulanışı** : Test toksoid ve standardın logaritmik aralıklarla dilusyonları yapılır. Her dilusyon her biri 250-350 gr.lık 10'ar kobaya 1'er ml veya 5 haftalık en az 10 fareye 0.5 ml deri altı yolla enjekte edilmelidir. Kobaylara immünizasyondan 4-5 hafta sonra 1 ml.de 50 LD₅₀ ve farelere 0.5 ml.de 100 LD₅₀ olacak şekilde hazırlanmış tetanoz toksini deri altı yolla verilmelidir. Bu hayvanlar 7 gün süreyle gözlem altında tutulurlar. Challenge için kullanılan toksin en az 3 seri dilusyon şeklinde immünize edilen hayvanlarla aynı yaşta en az 3 hayvana enjekte edilmek suretiyle kontrol edilmelidir. Kobaylar için challenge toksininin her enjeksiyon dozu yaklaşık 25-100 LD₅₀ toksin içermeli, fareler için ise 50-200 LD₅₀ içermelidir.

5.7.3. **Karar Kriterleri** : Tespit edilen potens değerinin % 95 güvenlik limitleri, bulunur potens değerinin % 50-200 sınırları içinde olmalıdır ve güvenlik limitlerinin en düşük değeri bir insan dozunda 40 IU' den az olmamalıdır.

5.8. **Identite Testi** : Final ürünün uygun miktarda adjuvanı elimine etmek amacıyla % 10 w/v olacak şekilde sodyum sitratla çözülmeli ve 37 °C ' de 16 saat süreyle inkübasyona bırakılmalıdır. Inkübasyondan sonra final ürün berrak bir supernatant elde edilmeye değin santrifüje edilmelidir. Elde edilen berrak sıvıda uygun bir tetanoz antitoksini ile flokülasyon testi uygulanmalıdır.

6. Storage and dating period :

The final product shall be stored at a temperature of 5 ± 3 °C. The dating period shall not be more than 3 years after the date of the last satisfactory potency test, i.e. the date on which the animals were immunized with the vaccine.

6. Saklama koşulları ve kullanma süresi :

Final ürün 5 ± 3 °C 'de muhafaza edilmelidir. Ürünün son kullanma tarihi, uygun olan son potens testinin uygulanmasından (deney hayvanlarının immünize edildikleri tarihten) itibaren 3 yılı geçmemelidir. Final ürün 5 ± 3 °C de saklanmalıdır.

FREEZE-DRIED BCG VACCINE (for intradermal use)

1. Definition and property

Freeze-dried BCG Vaccine is a freeze-dried product containing live bacteria derived from a culture of the bacillus of Calmette and Guerin the capacity of which to protect against tuberculosis has been established. The product consists of a white powder or crust. It is reconstituted as stated on the label to give a whitish or pale yellowish turbid liquid suspension.

2. Production Control

2.1. Source Materials.

2.1.1. Strain used for production.

The vaccine shall be prepared using a seed lot system. The strain is chosen for and maintained to preserve its stability. It is capacity to sensitize man and experimental animals to tuberculin-positive and to protect them against tuberculosis and it is relative absence of pathogenicity for man and laboratory animals.

The strain for production is separated from the seed lot by as few passages as possible and in any case not more than 9 passages from the seed lot.

2.1.2. Medium used for cultivation.

The medium given in 2.2 or any other suitable medium shall be used.

2.2. Cultivation for vaccine.

2.2.1. Seed culture.

The strain for production shall be inoculated on potato medium with glycerin solution, on Sauton's potato medium or on Sauton's medium, and cultivated at 37.5 ± 0.5 °C. The culture may be repeated again within a period of 3 weeks, if necessary. The bacterial growth after 5 days cultivation shall be inoculated to Sauton's medium, which is cultured at 37.5 ± 0.5 °C for 6-10 days, and the growing pellicle shall be used as the seed culture.

2.2.2. Cultivation and harvesting

The seed culture shall be inoculated on Sauton's medium which is incubated at 37.5 ± 0.5 °C for 6-10 days. The pellicle growing on the surface of medium shall be harvested by filtration or by any other suitable method. The pellicle shall cover the whole surface of medium and shall be judged as being at the stage of active growth.

At the completion of cultivation, the medium shall be subjected to the test given in 3.1.

DONDURULUP-KURUTULMUŞ BCG AŞISI (Deni içi kullanılm)

1. Tanım ve özelliklik

Dondurulup-kurutulmuş BCG Aşısı, Calmette-Guerin Basili kültüründen elde edilen canlı bakteriler içerir. Bu ürün tuberkuloza karşı koruyucudur. Beyaz toz veya partiküllerden ibarettir. Etiketindeki gibi sulandırıldığında beyazimsı veya sarımsı bulanık bir suspansiyon oluşturur.

2. Üretim Kontrolü

2.1. Kaynak Materyal

2.1.1. Üretimde kullanılan suş

Aşısı, stabilitesini koruyan bir suştan tohum kültür sistemi kullanılarak hazırlanır. Bu suş, insanları ve deney hayvanlarını tüberküline karşı pozitif olarak hassaslaştırır ve tüberküloza karşı korur. Ayrıca insanlara ve deney hayvanlarına karşı patojen olmayan bir özelliktedir.

Suş, tohum kültüründen ayrıldıktan sonra mümkün olduğu kadar az pasajlanmalı ve pasaj sayısı 9'u geçmemelidir.

2.1.2. Kültür için kullanılan vasat.

2.2 de verilen vasat yada uygun bir vasat kullanılır.

2.2. Aşı için kültürasyon

2.2.1. Tohum kültürü

Üretimde kullanılan suş, sırası ile gliserinli patates vasatına, Sotonlu patates vasatına ve soton vasatına inoküle edilerek 37.5 ± 0.5 °C inkübe edilir. Eğer gerekiyorsa pasaj 3 haftalık aralıklarla tekrar edilir. 5 günlük kültür sonrasında üreyen bakteriler, soton vasatına inoküle edilerek kültürler 37.5 ± 0.5 °C de 6-10 gün inkübe edilir. Üreyen bu kısım tohum kültürü olarak kullanılır.

2.2.2. Kültürasyon ve Toplama

Tohum kültürü, soton vasatına inoküle edilerek kültürler 37.5 ± 0.5 °C de 6-10 gün inkübe edilir. Vasatın yüzeyinde oluşan zar filtrasyon yöntemi veya uygun bir yöntemle toplanır. Zar vasatın tüm yüzeyini kaplamalı ve bu aktif büyüme olarak değerlendirilmelidir.

Kültürasyonun tamamlanması sonrasında vasat 3.1. de açıklanan testlerde kullanılır.

2.3. Final bulk and dispensing

The moist bacteria shall be triturated homogeneously, and suspended in a solution of sodium glutamate at no higher than 1.5 w/v % or any other suitable solution to make the specified moist bacterial concentration to serve as final bulk.

The final bulk shall be subjected to the tests given in 3.2.

The final bulk shall be dispensed to final containers at the volume specified, freeze-dried and hermetically or tightly sealed.

3. Control tests

3.1. Control test on medium at completion of cultivation

The medium shall be transparent at the completion of cultivation.

3.2. Control tests on final bulk.

3.2.1. Identity test

It is identified by microscopic examination of the bacilli in stained smears demonstrating their acid-fast property, by the characteristic appearance of colonies grow on solid medium and by the biological tests described below.

3.2.2. Sterility test

The test given in General Test Section shall apply.

3.2.3. Test for freedom from virulent mycobacteria

The test shall carry out on the final bulk and/or final products.

A sample of the final bulk intended for this test shall be stored at 4 °C for not more than 72 hours after harvest.

At least 6 guinea pigs, all of the same sex, each weighing between 300 and 400 g are used. A dose of BCG organisms corresponding to at least 50 human doses of vaccine intended for intradermal injection shall be injected into each guinea pig by the subcutaneous or intramuscular route. The inoculated animals shall be observed for 6 weeks.

No animal shall show any abnormal signs except lesions with apparent tendency of recovery at the site of injection and regional lymph nodes. No animal shall show progressive tuberculous lesions or other abnormal changes except mild lesions with tendency of recovery at autopsy performed at the end of the observation period.

3.2.4. Skin reactivity test

Inject intradermally into each of four healthy guinea pigs of the same sex, weighing not less than 350 g, 0.1 ml of the suspension and of two tenfold serial dilutions of them and identical doses of the reference vaccine.

2.3. Final bulk ve dağıtım

Nemli bakteri homojen olarak ezilip toz haline getirilir. Final bulk olarak bilinen bu spesifik nemli bakteri % 1.5 w/v' i geçmeyen Natrium-Glutamine veya uygun bir solüsyonla suspanse edilir.

Final bulk 3.2. de açıklanan testlere tabii tutulmalıdır.

Final bulk, son kap içerisine belirli miktarda revzi edilerek dondurulup kurutulur. Vakumla veya uygun bir yöntemle sıkıca kapatılır.

3. Kontrol Testleri

3.1. Kültivasyon tamamladığında vasattaki kontrol testleri

Kültivasyon tamamlandığında vasat berrak olmalıdır.

3.2. Final Bulk daki Kontrol Testleri

3.2.1. İdenite Testi

Asit-fast özelliklerini gösteren boyanmış preparatların mikroskopik olarak incelenmesiyle, katı vasat üzerinde oluşan kolonilerin karakteristik görünüşleriyle ve aşağıda açıklanan biyolojik testler ile identifikasyonu yapılır.

3.2.2. Sterilite Testi

Genel Testler Bölümü'nde verilen test uygulanır.

3.2.3. Virulan mycobacterium'ların yokluğu testi

Bu test final ürün ve/veya final bulk'ta uygulanır.

Bu testte kullanılacak numune 40C de ve 72 saati geçmeyecek şekilde saklanır.

Ağırlıklan 300 - 400 gr. arasında olan hepsi aynı sex'den en az 6 kobay kullanılır. Her bir kobaya, en az 50 intradermal insan dozu BCG mikroorganizması kas içi veya deri altı yolla enjekte edilir. İnokule edilen hayvanlar 6 hafta süreyle gözetim altında bulundurulur.

Hiçbir hayvanda enjeksiyon yapılan bölgede iyileşmeye açıkça meyilli lezyonlar ve bölgesel lenf yumruları dışında anormal belirtiler görülmemelidir. Diğer taraftan hiçbir hayvanda gözlem süresi sonunda yapılan otopside, iyileşmeye meyilli hafif lezyonlar hariç ilerleyen tüberküloz lezyonları veya diğer anormal değişiklikler gözlenmemelidir.

3.2.4. Deri hassasiyet testi

Suspansiyon ve bu suspansiyondan hazırlanan 10 katlı seri dilüsyonlarından her biri en az 350 gr ağırlığındaki aynı sex'den 4 sağlıklı kobaya 0.1 ml deri içi yolla enjekte edilir. Aynı şekilde referans aşıda paralel olarak uygulanır.

Observe the lesions formed at the site of the injection for 4 weeks. The vaccine shall pass the test if the reaction which produced is not markedly different from that produced by the reference vaccine.

3.2.5. Test for total bacterial content

This test shall carry on final bulk or final products.

The test sample shall be diluted to obtain 1 mg/ml concentration by appropriate solution and the absorbance of the dilution shall be measured by a spectrophotometer. The absorbance shall be no more than the value approved by the national control laboratory.

3.2.6. Test for number of culturable particles

The potency of the final bulk shall be determined by an appropriate method for counting the number of culturable particles on a solid medium.

3.3. Control tests on final product

3.3.1. Identity Test: The test given in 3.2.1. shall apply

3.3.2. Test for freedom from virulent mycobacteria: The test given in 3.2.3. shall apply.

3.3.3. Test for moisture content:

The test given in General Test Section is applied, the moisture content shall be no higher than 3 %.

3.3.4. Sterility Test:

The test given in General Test Section shall apply.

3.3.5. Test for total bacterial content:

The test given in 3.2.5. shall apply.

3.3.6. Test for number of culturable particles:

The potency shall be determined by the method for counting the number of culturable particles on solid medium.

3.3.6.1. Materials

Appropriate number of containers of final products shall be reconstituted in accordance with the description on the prospectus, pooled and further diluted in suitable diluent.

3.3.6.2. Test procedure

Each dilution shall be inoculated to Ogawa's medium or any other suitable solid medium at a dose of 0.1 ml. The cultures shall be incubated at 37.5 ± 0.5 °C for 4 weeks and the number of appearing colonies shall be counted. The number of viable units in the reconstituted vaccine shall be determined by the statistical analysis of a colony count obtained.

Enjeksiyon bölgesindeki oluşumlar 4 hafta boyunca gözlenir. Eğer bu oluşumlar referans aşının meydana getirdiği oluşumlardan farklı değilse aşı testi geçer.

3.2.5. Toplam bakteri yoğunluğu testi.

Bu test final ürün yada final bulkta uygulanır.

Test örneği uygun bir solusyonla konsantrasyonu 1 mg/ml olacak şekilde sulandırılır ve bu dilüsyonun absorbansı spektrofotometrede ölçülür. Absorbans değeri Ulusal Kontrol Laboratuvarı tarafından onaylanmış olan değeri geçmemelidir.

3.2.6. Koloni parikül sayımı

Final bulk'ın potens testi, katı vasat üzerinde koloni partiküllerinin sayılması için uygun bir metotla belirlenir.

3.3. Final üründe kontrol testleri

3.3.1. İdenite testi: 3.2.1. de verilen test uygulanır.

3.3.2. Virülan Mycobacterium larına Yokluğu Testi: 3.2.3. de verilen test uygulanır.

3.3.3. Nem miktarı tayini

Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır. Nem miktarı % 3 den fazla olmamalıdır.

3.3.4. Sterilite testi

Genel Testler Bölümünde verilen test uygulanır.

3.3.5. Toplam bakteri yoğunluğu testi

3.2.5 de verilen test uygulanır.

3.3.6. Kültür edilebilen partikül sayısı için test

Potens testi, katı vasat üzerinde kültür edilebilen partiküllerin sayısının hesaplanması metodu ile tayin edilir.

3.3.6.1. Materyal

Prospektüsündeki tarife göre sulandırılıp, toplanır ve uygun bir sulandırıcı ile dilüsyonu yapılır.

3.3.6.2. Testin Uygulanışı:

Her dilüsyondan Ogawa vasatına veya uygun bir vasata 0.1 ml olarak inoküle edilir. Kültürler 37.5 ± 0.5 °C de 4 hafta inkübe edilir ve görünen koloniler sayılır. Elde edilen koloni sayısının istatistiksel analizi ile sulandırılan aşısındaki canlı jerm sayısı hesaplanır.

The number of viable units contained in the test sample shall be not less than that stated on the prospectus and that has been shown to be effective and tolerated in the age group for which the vaccine is intended.

3.3.7. Stability test

The degree of stability shall be tested by the determination of the number of culturable particles before and after the samples have been held at appropriate temperatures and for appropriate periods.

3.3.7.1. Holding materials

Appropriate number of final products shall be incubated at 37.5 ± 0.5 °C and stored at 4 °C respectively for 28 days.

3.3.7.2. Test procedure

The samples shall be reconstituted in accordance with the description on the prospectus, pooled and further diluted in suitable diluent.

Each dilution shall be inoculated to Ogawa's medium or any other suitable solid medium at a dose of 0.1 ml. The culture shall be incubated at 37.5 ± 0.5 °C for 4 weeks and number of appearing colonies shall be counted. The number of viable units in the test samples shall be determined by the statistical analysis of a colony count obtained.

3.3.7.3. Criterion for judgment

The percentage decrease in the number of culturable particles is then compared with that of samples of the same vaccine stored at 4 °C. The number of viable units in the vaccine after heating shall be not less than 20 % of that in the refrigerated vaccine

4. Storage and dating period

The date shall be not more than 2 years after the date of issue provided that this is not more than 3 years from the date of the last satisfactory test for culturable particles. In any event, the expiry date shall be not more than 4 years from the date of the vaccine harvest.

5. Other requirements

5.1. Final containers

Colored containers conforming to the requirements given in the test of glass containers for injections of European Pharmacopoeia shall be used.

Test örneklerindeki canlı jerm sayısı prospektüsündeki değerden düşük olmamalı ve yaş gruplarında etkili olup, bu değer onların tolöre edebileceği düzeyde olmalıdır.

3.3.7. Stabilité testi

Uygun süre ve uygun sıcaklıkta tutulan numune ile tutulmayan numunenin koloni partikül sayısının karşılaştırılması ile stabilite değeri test edilir.

3.3.7.1. Kullanılan materyal

Uygun sayıdaki final ürün 37.5 ± 0.5 °C de ve 4 °C de 28 gün bekledir.

3.3.7.2. Test işlemleri

Prospektüsündeki tarife göre sulandırılıp, toplanır ve uygun bir sulandırıcı ile dilüsyonu yapılır.

Her bir dilüsyondan Ogawa vasatına veya uygun bir katı vasata 0.1 ml olarak inoküle edilir. Kültürler 37.5 ± 0.5 °C de 4 hafta kalır ve oluşan koloniler sayılır. Elde edilen koloni sayısının istatistiksel analizi ile sulandırılan aşındaki canlı jerm sayısı bulunur.

3.3.7.3. Karar kriterleri

Kültür edilebilen partiküllerin sayısının düşüş yüzdesi 4 °C de depolanan aşındaki ile kıyaslanır, inkübatörde bekletilen aşının canlı jerm sayısının buzdolabında bekletilen aşıya oranı % 20' nin altına düşmemelidir.

4. Depolama ve son kullanma tarihi

Son kullanma tarihi, aşı tevzi edildikten sonra 2 yıldan fazla olmamalı, şayet koloni partikül sayısının test sonucundan sonra veriliyorsa 3 yıldan fazla olmamalı her koşulda son kullanma tarihi hasat tarihinden itibaren 4 yıldan fazla olmamalıdır.

5. Diğer istekler

5.1. Final ampul veya şişeler

Avrupa farmakopisinde cam şişeler bölümünde verilen isteklerde bildirilen renkli malzemeler kullanılmalıdır.

5.2. Labelling

The label on the container or the label on the package or a prospectus accompanying the package shall states,in particular:

- The number of viable units per milliliter in the reconstituted vaccine.
- That the vaccine must be stored below 8 °C and protected from light both before and after reconstitution
- That it must be used immediately after opening the container and any residue must be discarded.
- The age groups for which the vaccine is intended.
- That it must be used only for intradermal injection.

5.2. Etiketleme

Şişe veya paket yada prospektüs üzerinde bulunması gerekenler,

- Sulandırılmış aşının her mililitresinde canlı jerm sayısı olmalıdır.
- Aşı sulandırılmadan önce ve sulandırıldıktan sonra gün ışığından korunmalı ve 8 °C nin altında depolanmalıdır.
- Aşı sulandırıldıktan hemen sonra kullanılmalı ve kalanı atılmalıdır.
- Aşının tasarlanan yaş grupları belirtilmelidir.
- Aşı yalnız deni içi kullanılmalıdır.

**MAYMUN BÖBREK HÜCRELERİNİN PRİMER KÜLTÜRLERİNDE
HAZIRLANAN POLİYO AŞISININ (ORAL) ASGARİ KRİTERLERİ**

**MINIMUM REQUIREMENT FOR
POLIOMYELITIS VACCINE (ORAL) PREPARED IN
PRIMARY CULTURES OF MONKEY KIDNEY CELLS.**

1. Definition and property.

Poliomyelitis vaccine (oral) prepared in primary cultures of monkey kidney cells is a slightly yellowish-red or slightly redtransparent liquid product containing live attenuated poliovirus of types 1,2 and 3 (hereafter referred to as "virus"). When frozen, the product may be slightly yellow to slightly red with a whitish tint. When thawed, the product may contain educts of tissue protein or gelatin.

Monovalent or bivalent product may be prepared, if necessary.

2. Production control.

2.1. Source materials.

2.1.1. Strains of virus used for production.

Strain LSc, 2ab of type 1, strain p712, Ch, 2ab of type 2 and strain leon, 12alb of type 3 of virus or other strain approved to be more adequate for the product shall be used.

Vaccine production shall be based on the virus seed lot system. The virus working seed lot used for the production of vaccine batches shall be prepared by a single passage from a master seed lot by a method and at a passage level from the original seed virus approved by the national control authority.

2.1.2. Animals and kidneys used for production.

The kidneys from ercopathicus monkeys or any other species with equal sensitivity shall be used.

The monkeys shall be kept in well-constructed and adequately ventilated animal rooms in cages spaced as far apart as possible. Adequate precautions shall be taken to prevent cross-infection between cages. Not more than two monkeys shall be housed per cage and cage-mates shall not be interchanged. The monkeys shall be kept in the country of manufacture of the vaccine in quarantine groups for a period of not less than

1. Tanım ve özellikler

Maymun böbrek hücrelerinin primer kültürlerinde hazırlanan polio aşısı (oral), hafif sarımsı kırmızı veya açık kırmızı, berrak bir üründür. Bu aşı zayıflatılmış canlı polio virüsüdür ve tip 1, 2 ve 3'den oluşur. Dondurulduğunda, ürün açık sarı ile açık kırmızı arasında olabilir. Çözündüğünde, ürün doku protein kalıntısı veya jelatin içerebilir.

Eğer gerekirse, monovalent veya bivalent olarak hazırlanabilir.

2. Üretim kontrolü

2.1. Kaynak maddeler

2.1.1. Üretimde kullanılan virüs suşları

Tip 1 için LSc, 2ab suşları, tip 2 için p712, Ce, 2ab suşları tip 3 için leon, 12 alb suşları veya aşı için çok faydalı olabilecek onaylanmış başka bir suş kullanılır.

Aşı üretimi, tohum virüs seri sistemine dayanır. Aşı bulklarının üretimi için kullanılan çalışma tohum virüs serisi, bir metodla ana tohum serisinden yapılan tek bir pasaja ayrılarak hazırlanır ve ulusal kontrol otoritesinin onayı ile orijinal tohum virüsünden tek bir pasaj seviyesinde olmalıdır.

2.1.2. Üretimde kullanılan böbrekler ve hayvanlar

Cercopithecus maymunlarının böbrek hücreleri veya aynı hassasiyette başka türler kullanılır.

Maymunlar iyi kurulmuş yeterince havalandırılan hayvan odalarında mümkün olduğunca birbirinden uzak yerleştirilmiş geniş kafelerde barındırılmalıdır. Bulaşıcı bir hastalığın kafesten kafese bulaşmasını engellemek için gerekli önlemler alınmalıdır. Her kafeste ikiden fazla maymun barınmamalıdır ve kafelerde barınan hayvanların kafesleri değiştirilmemelidir. Maymunlar, aşı üretilecek ülkede kullanılmadan önce 6 haftadan az ol

six weeks before use. If at any time during the quarantine period the overall death rate of a shipment consisting of one or more groups reaches 5% (excluding deaths from accidents or where the cause was specifically determined not to be an infectious disease), monkeys from that entire shipment shall continue in quarantine from such time for a further period of not less than six weeks. The groups shall be kept continuously in isolation, as in quarantine, even after completion of the quarantine period, until the monkeys are used. After the last monkey of a group has been taken, the room that housed the group shall be thoroughly cleaned and decontaminated before being used for a fresh group.

If a monkey shows any pathological lesion relevant to the use of its kidneys in the preparation of a seed lot or vaccine, it shall not be used, nor shall any of the remaining monkeys of the quarantine group concerned be used unless it is evident that their use will not impair the safety of the product.

All the operations described in this section shall be conducted outside the areas where vaccine is made.

The monkeys used shall be shown to be free from antibodies to SV40 virus and simian immunodeficiency virus.

2.2 Bulk materials.

2.2.1. Kidney-cell cultures.

Kidney cells from each individual animal shall be cultured separately (hereafter referred to as "individual cell cultures"). A minimal amount of antibiotics may be added in the cultures. When penicillin is used, the concentration shall be not higher than 200 units per ml. Prior to the inoculation with virus, each cell culture shall be examined. No cytopathic change shall be detected.

The individual cell cultures shall be subjected to the tests given in 3.1.

2.2.2. Virus suspensions

2.2.2.1. Single harvest.

The individual cell cultures shall be inoculated with virus; virus suspension from the individual cell cultures shall be harvested after a period not longer than 4 days; the temperature of incubation shall be in the range of 33°C to 35°C with a range of variation not greater than ± 0.5 °C.

Phenol red shall be added to the maintenance medium of cells at a con

centration of 0.002 w/v. Eger karantina sırasında yüklemeye veya grupla toplam ölüm oranı %5'e ulaştığında (kazara olan ölümler veya bulaşıcı bir hastalıktan kaynaklanmadığına karar verilen durumlar hariç) tüm yüklenen maymunlar için karantina süresi en az bir 6 hafta daha uzatılmalıdır. Gruplar, karantina süresinin bitiminden sonra kullanılmaya kadar karantinada olduğu gibi ayrı tutulmaya devam etmelidir.

Bir gruptaki son maymundan kullanıldıktan sonra grupların barındıkları oda yeni maymun grupları için temizlenip dezenfekte edilmelidir. Eğer bir tohum serisi veya aşılabilirliği için kullanılacak böbreklerin birinde patolojik lezyonlar görülmüş ise bu maymun böbreği kullanılamaz ve hatta ürüne zarar vermeyeceği kesin olsa bile karantinada aynı grupta olan diğer maymunların kullanılması dahi düşünülmez.

Bu bölümde tarif edilen bütün işlemler aşımın üretildiği yerin dışındaki uygulanmalıdır.

Kullanılacak olan maymunlarda, SV40 virüsü ve simian immunodeficiency virüsü bulunmamalıdır.

2.2. Bulk materyaller

2.2.1. Böbrek hücre kültürleri

Herbir hayvanın böbrek hücreleri ayrı ayrı kültürler (birey hücre kültürleri). Kültüre minimum miktarda antibiyotik eklenmelidir. Penisilin kullanıldığında, bu miktar konsantrasyonda 200 Ünite /ml'den fazla olmamalıdır. Virüs inokülasyonundan önce, her bir hücre kültürü muayene edilmelidir. Sonuç olarak sitopatojenik etki saptanmamalıdır.

Birey hücre kültürlerinde yapılacak testler 3.1.'de verilmiştir.

2.2.2. Virüs süspansiyonları

2.2.2.1. Tek hasat

Birey hücre kültürleri virüs ile inoküle edilir ve 4 günden fazla olmayan bir süre bekledikten sonra birey hücre kültürlerinden elde edilen virüs süspansiyonları 33 C - 35 C ± 0.5 C de inkübe edilirler.

Konsantrasyonu %0.002 w/v'den fazla olmayacak şekilde fenol red muhafaza vasatına eklenmelidir. Penisilin, serum ve fraksiyonları hariç minimum miktarda antibiyotik ek

centration no higher than 0.002 w/v%. A minimal amount of antibiotics, but no serum or its fraction nor penicillin may be added.

The single harvest shall be subjected to the tests given in 3.2.1.

2.2.2.2. Monovalent bulk suspension before filtration

Single harvests of a strain shall be pooled to make a monovalent bulk suspension before filtration. Any appropriate stabilizing agent may be added to the monovalent bulk suspension before filtration.

The monovalent bulk suspension before filtration shall be subjected to the tests given in 3.2.2.

2.2.2.3. Filtered monovalent bulk suspension.

Monovalent bulk suspension shall be filtered to serve as the filtered monovalent bulk suspension.

The filtered monovalent bulk suspension shall be subjected to the tests given in 3.2.3.

2.3. Final bulk.

Filtered monovalent bulk suspensions shall be appropriately mixed and added with suitable stabilizers shall have been shown to the satisfaction of the national control authority not to impair the safety and to improve the stability of the vaccine in the concentrations used.

The final bulk shall be subjected to the given in 3.3.

2.4. Final product.

Final bulk shall apply to final product filled in the final form.

The final product shall be subjected to the tests given in 3.4.

3. Control tests.

3.1. Control tests on cell culture.

The growth medium shall be removed and pooled to serve as the test sample.

The test sample shall be subjected to the tests given in 3.1.2, 3.1.3, and 3.1.4. The ratio of volumes of the test sample to the maintenance medium of cell cultures to be used shall be not exceed 1:4 and the area of cell sheet shall be at least 3cm² per ml of the sample.

3.1.1. Test on control cell cultures.

lenebilir.

Tek hasat, 3.2.10'de verilen testlere göre uygulanır.

2.2.2.2. Filtrasyondan önce monovalent bulk süspansiyonları

Filtrasyondan önce monovalent bulk süspansiyonu yapmak için bir susun tek hasatları toplanır daha sonra herhangi uygun bir stabilizör madde bu süspansiyona eklenebilir. Filtrasyondan önce monovalent bulk, 3.2.2. de verilen testlere göre uygulanır.

2.2.2.3. Filtre edilmiş monovalent bulk süspansiyonu

Filtre edilmiş monovalent bulk süspansiyon hazırlamak için monovalent bulk süspansiyon filtre edilir

Filtre edilmiş monovalent bulk süspansiyon, 3.2.3. de verilen testlere göre uygulanır.

2.3. Final bulk

Filtre edilmiş monovalent bulk süspansiyonları uygun bir şekilde karıştırılmalı aşının stabilitesini artırıcı ve zararsız olduğu ulusal kontrol otoritesi tarafından kabul edilmiş uygun stabilizörler eklenmelidir.

Final bulk, 3.3. de verilen testlere göre uygulanır.

2.4. Final ürün

Final bulk, uygun bir şekilde doldurulduktan sonra final ürün olarak kullanılır.

Final ürün 3.4. de verilen testlere göre uygulanır.

3. Kontrol testleri

3.1. Hücre kültüründeki kontrol testleri

Büyüme vasatı alınıp, test örneği olarak kullanılmak üzere toplanır

Test örneği, 3.1.2., 3.1.3. ve 3.1.4. de verilen testlere göre uygulanır.

Kullanılacak hücre kültürü ile test örneğinin miktarı arasındaki oran 1/4 'ü geçmemelidir ve hücrenin kapladığı alan örneğin en az 3cm²/ml'si olmalıdır

3.1.1. Kontrol hücre kültürlerinde test

A portion of 25% of the individual cell cultures shall be left uninoculated to serve as the control cell cultures. The control cell cultures shall be incubated under the same conditions as the inoculated cultures for an observation period of 14 days and examined for any cytopathic change due to extraneous virus. During the observation period, cultures discarded due to any nonspecific or accidental reason shall be less than 20% of the total cultures.

On the 7th day and at the end of the observation period, the pooled sample of the maintenance medium from each culture shall be subjected to the tests given in 3.1.2, 3.1.3 and 3.1.4.

The maintenance medium shall be removed from 4% of the control cell cultures on the 4th day and from all the remaining cultures at the end of the observation period. The test given in 3.1.5, shall be applied to those cultures deprived of the maintenance medium.

3.1.2. Test in monkey kidney-cell cultures prepared from The same species.

A 10ml portion of the test sample shall be inoculated into Monkey Kidney-cell cultures prepared from same species and incubated at 35°C to 37°C for an observation period of 14 days. No cytopathic change due to measles virus or any other extraneous virus shall be detected.

At the end of the observation period, the culture fluid shall be further transferred to other cell cultures, which shall be incubated for another observation period of 14 days. No cytopathic change due to extraneous virus shall be detected. The test by this transfer may be omitted in the test of the control cell cultures.

3.1.3. Test in cell cultures from cercopithecus monkey or One sensitive to sv 40 virus.

A 10ml portion of the test sample shall be inoculated into kidney-cell cultures from Cercopithecus monkeys or one sensitive to SV40 virus, which shall be incubated 35°C to 37°C for an observation period of 14 days. No cytopathic change due to SV40 or any other extraneous virus shall be detected. At the end of the observation period, the culture fluid shall be further transferred to other cell cultures, which shall be incubated for another observation period of 14 days. No cytopathic change due to extraneous virus shall be detected. The test by this transfer may be omitted in the test of the control cell cultures.

3.1.4. Test in rabbit kidney-cell cultures.

Birey hücre kültürlerinin % 25 lik bir kısmı, kontrol hücre kültürü olarak kullanılmak üzere inoküle edilmemiş olarak bırakılır. Kontrol hücre kültürleri 14 günlük gözlem süresince inoküle edilmiş kültürlerle aynı şartlar altında inkübe edilir ve dış kaynaklı virüslere bağlı herhangi bir sitopatojenik değişiklik olup olmadığı kontrol edilir. Gözlem süresince, spesifik olmayan veya kazara olan durumlara bağlı olarak atılan kültürler toplam kültürlerin %20 sinden az olmalıdır.

7.günde yada gözlem süresinin sonunda her kültürün muhafaza vasat örneği toplanır 3.1.2,3.1.3.ve 3.1.4.'de verilen testlere göre uygulanır.

Muhafaza vasatı 4. günde kontrol hücre kültürlerinin % 4'ü alınır ve gözlem süresinin sonundada kalan kültürlerin hepsi toplanır. 3.1.5. te verilen testler muhafaza vasatındaki kültür-kayıpları için uygulanır.

3.1.2. Aynı türlerden hazırlanan maymun böbrek hücre kültürlerindeki testi

Test örneklerinin 10 ml' lik bir kısmı aynı türden hazırlanan maymun böbrek hücre kültürlerine inoküle edilir ve 14 günlük gözlem süresince 35 C - 37 C de inkübe edilir. Kazamık virüsü veya herhangi bir dış kaynaklı virüsün sebep olabileceği sitopatojenik değişiklik saptanmamalıdır.

Gözlem süresinin sonunda kültür sıvısı diğer hücre kültürlerine birdaha transfer edilir ve diğer 14 günlük gözlem süresi için inkübe edilir. Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir değişiklik saptanmamalıdır. Bu transfer testi kontrol hücre kültürlerinin testleri dışında kalabilir.

3.1.3.Cercopithecus maymunundan veya SV40 virüsüne hassas bir türden hazırlanan hücre kültürlerinde testi

Test örneklerinin 10 ml'lik bir kısmı Cercopithecus maymunundan veya SV40 virüsüne hassas bir türden hazırlanan böbrek hücre kültürlerine inoküle edilir ve 14 günlük gözlem süresince 35 C - 37 C de inkübe edilir. SV40 virüsüne veya herhangi bir dış kaynaklı virüsün sebep olabileceği sitopatojenik değişiklik saptanmamalıdır.

Gözlem süresinin sonunda kültür sıvısı diğer hücre kültürlerine birdaha transfer edilir ve diğer 14 günlük gözlem süresi için inkübe edilir. Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir değişiklik saptanmamalıdır. Bu transfer testi kontrol hücre kültürlerinin testleri dışında kalabilir.

3.1.4.Tavşan böbreği hücre kültürlerindeki testi

A 10ml portion of the test sample shall be inoculated into rabbit kidney-cell cultures, which shall be incubated at 35°C to 37°C for an observation period of 14 days. No cytopathic change due to B virus or any other extraneous virus shall be detected.

3.1.5. Test for freedom from haemadsorption viruses.

When the test sample given in 3.1.1. is tested by addition of red blood cells of guinea pigs, no haemadsorption virus shall be detected.

3.2. Control tests on virus suspension.

3.2.1. Tests on single harvest.

The requirements given in 3.1.2. shall be applied to 5ml. and those given in 3.1.3. to 5ml. of the test sample. The test sample shall be treated with type specific anti-poliovirus immune serum to neutralize the virus. The immune serum used for neutralization of virus in this test shall be prepared by immunizing animals other than monkeys with polioviruses propagated in non-simian cells.

3.2.2. Tests on monovalent bulk suspension before Filtration.

3.2.2.1. Sterility test.

The test (1), (2) and (3) given in General Testing Methods shall apply.

3.2.2.2. Test for freedom from extraneous viruses.

3.2.2.2.1. Test in rabbits.

The test sample shall be injected into at least ten rabbits weighting about 2 kg intracutaneously at multiple sites at a dose of 1ml and subcutaneously at a dose of 9ml. The inoculated animals shall be observed for 21 days. No animal shall show signs of infection with B virus or any other extraneous virus, and no fewer than 80% of the animals shall survive.

3.2.3. Tests on filtered monovalent bulk suspension.

3.2.3.1. Test for identification of type of virus.

The test shall be conducted to identify the type of contained in the test sample with immune serum specific to each type of virus.

3.2.3.2. Test for virus content.

Test örneklelerinin 10 ml'lik bir kısmı tavşan böbrek hücre kültürlerine inoküle edilir ve 14 günlük gözlem süresince 35 C - 37 C de inkübe edilir. B virüsüne veya herhangi bir dış kaynaklı virüsün sebep olabileceği sitopatojenik değişiklik saptanamamalıdır.

3.1.5. Hemadsorbed virüslerin bulunmadığını gösteren test

3.1.1. de verilen test örnekleri kobay kırmızı kan hücrelerinin ilavesiyle test edildiğinde hemadsorbed virüsler saptanamamalıdır.

3.2. Virüs süspansiyonundaki kontrol testleri

3.2.1. Tek hasatta uygulanan testler

3.1.2. ve 3.1.3. de verilen test örneğinin 5 ml 'sine uygulanır. Test örneği virüsü nötralize etmek için tiplerin spesifik antipoliovirüs immün serumu ile muamele edilir. Bu testte virüsü nötralize etmek için kullanılan immün serum simian olmayan hücrelerde geliştirilen polio virüsü ile maymun dışındaki diğer hayvanların bağışıklanması ile hazırlanır.

3.2.2. Filtrasyondan önce monovalent bulk süspansiyonunda yapılan testler

3.2.2.1. Sterilite testi

Genel test metodlarında verilen (1),(2)ve(3) 'deki testler uygulanır.

3.2.2.2. Dış kaynaklı virüslerin bulunmadığını gösteren test

3.2.2.2.1. Tavşanlardaki test

Test örneği 2 kg ağırlığındaki en az 10 tavşana 1 ml 'lik bir doz birkaç bölgeden kas içine veya 9 ml 'lik bir doz deri altına enjekte edilir. Enjekte edilmiş hayvanlar 21 gün gözlenir. Hayvanlardan hiçbir B virüsü veya diğer dış kaynaklı virüsle enfekte olduğunu gösteren bir işaret taşımamalı ve yaşayan hayvanların % 80 'inde ateş olmamalıdır.

3.2.3. Filtre edilmiş monovalent bulk süspansiyonunda yapılan testler

3.2.3.1. Virüs tiplerinin identifikasyon testi

Test, her virüs tipi için spesifik olan immün serumlarla test örneğinin içerdiği tiplerin identifiye edilmesi ile uygulanır.

3.2.3.2. Virüs miktar testi.

Test örneğinin uygun logaritmik seri dilüsyonları hazırlanır. Her dilüsyon uygun hücre kültüründe virüs miktarına karar vermek için inoküle edilir ve daha sonra inkübe edilir. Virüs miktarı 106.5 TCID₅₀/ml'den az olmamalıdır.

3.2.3.3. Virüs karakteristiklerindeki uyum testi

Test örneği hücre kültüründe çoğaltığı süre içinde değişikliğe uğramamış aşı virüsleri sağlamak için bazı karakteristiklere bağlı olarak tohum serisi veya bir referans preparatı ile kıyaslanarak test edilir.

3.2.3.4. Maymunlardaki nörovirülans testi

Nörovirülans teste kullanılacak maymun 2.1.2 'de verilen bilgilere uygun olmalı ve ağırlığı 1.5 kg dan az olmamalıdır. Macaca veya Cercopithecus maymunlar için filtre edilmiş bulk süspansiyonlarının patojenisi, merkezi sinir sisteminin lomber bölgesine inoküle edilerek nörovirülans test için bir referans virüs preparatı ile kıyaslanarak test edilir. Her maymundan enjeksiyon öncesinde alınan serum örnekleri 1/4 lük dilüsyonların da herhangi bir nötralize edici antikor içermemeli ve test edildiğinde, üç polio virüs tipinin herbiri 1000 TCID₅₀'den fazla olmamalıdır.

Nörovirülans test yalnızca üretici tarafından yapılır. Histoloji bölümü, ulusal kontrol otoritesinin değerlendirmeleri için rapor hazırlamalıdır.

3.2.3.4.1. Maymun sayısı

Herbir maymun gurbununaynı zamanda, aynı aşı veya uygun homotipik referans aşı ile test edilmesi önerilir. Eşit sayıda hayvanlar referans virüs ve test edilecek aşı ile enjekte edilir. Maymunlar, aşı veya referans virüse ve randomizasyon işlemine göre özel kafeslere yerleştirilir.

Aşının değerlendirilmesinde en az 11 pozitif maymun bulunmalı ve bu maymunlar tip 1 ve tip 2 virüsleri için referans preparatıdır. (Pozitif maymun demek, merkezi sinir sisteminde polio virüsünün nöral lezyon karakterlerini taşıması demektir). Tip 3 için, en az 18 pozitif maymun referans olarak ve bir 18 pozitif maymunda aşı için kullanılmıdır. Birden fazla aşı serisi aynı homotipik referans virüs ile test edilebilir. Eğer mümkünse, maymunlar aynı karantina gurbundan ve rastgele yerleştirilmiş olmalıdır. Eğer hem homotipik referans hemde test edilecek aşı için aynı karantina gurbundaki maymunların kullanılması mümkün olmuyorsa her hazırlık için, iki karantina gurbundan eşit saydamaymun teste alınır. Eğer çalışma 2 gün sürüyorsa, her çalışılan günde eşit sayıda maymun aşı ve homotipik referans virüs ile enjekte edilir.

The test sample shall be made to appropriate logarithmic serial dilutions. Each dilution shall be incubated into adequate cell cultures, which shall be incubated to determine the virus content. The virus content shall be no lower than 106.5 TCID₅₀ per ml.

3.2.3.3. Test for consistency of virus characteristics.

The test sample shall be tested in comparison with the seed lot or a reference virus preparation with regard to certain characteristics to ensure that the vaccine virus has not undergone changes during its multiplication in to production cell culture.

3.2.3.4. Neurovirulence test in monkey.

Monkey used for neurovirulence tests must satisfy to given in 2.1.2. and weigh not less than 1.5kg. The pathogenicity of the filtered bulk suspension for Macaca or Cercopithecus monkeys shall be tested in comparison with that of a reference virus preparation for neurovirulence testing by inoculation into the lumbar region of the central nervous system. A pre-injection serum sample obtained from each monkey shall be shown not to contain any neutralizing antibody in a dilution of 1:4 when tested against no more than 1000 CCID₅₀ of each of the three types of poliovirus.

The neurovirulence test is performed only by manufacturer, the histological sections must be made available to the national control authority for evaluation.

3.2.3.4.1. Number of monkeys.

It is recommended that a vaccine and the appropriate homotypic reference virus should, whenever possible, be tested concurrently in a single group of monkeys. Equal numbers of animals should be inoculated with the reference virus and the vaccine being tested. Monkeys should be allocated to vaccine or reference virus and to particular cages using a randomization procedure.

The number of monkeys inoculated shall be such that at least 11 positive monkeys shall be included in the evaluation of the vaccine and at least 11 positive monkeys shall be included for the reference preparation for Types 1 and 2 virus (a "positive" monkey is one in which neuronal lesions characteristic of poliovirus are seen in the central nervous system). For Type 3 virus, there shall be at least 18 positive monkeys for the reference and a further 18 positive monkeys for the vaccine. More than one vaccine lot may be tested with the same homotypic reference. The monkeys shall, when possible, be from the same quarantine group and shall be allocated randomly to the preparations. If it is not possible to use monkeys for both the homotypic reference and the test vac

cine from the same quarantine group, an equal number of monkeys from two quarantine groups shall undergo tests with each of the preparations. If a test is done on two working days, equal numbers of monkeys shall be inoculated with the vaccine and the homotypic reference on each working day.

3.2.3.4.2. Virus content of vaccines and reference preparations inoculated

The virus contents of the vaccine and homotypic reference preparation shall be adjusted so as to be as close to one another as possible and shall be between 10^{5.5} and 10^{6.5} CCID₅₀/0.1ml.

3.2.3.4.3. Observation of monkeys.

All monkeys shall be observed for 17-22 days for symptoms suggestive of poliomyelitis or other virus infection. Monkeys that survive the first 24 hours but die before the 11th day after inoculation shall be autopsied to determine whether poliomyelitis has been the cause of death. Those that have died from causes other than poliomyelitis shall be excluded from the evaluation.

All monkeys that survive the observation period shall be autopsied.

For the test to be valid, no more than 20% of the animals in each group shall show signs of an intercurrent infection during the observation period.

3.2.3.4.4. Histological examination.

The lumbar cord, the cervical cord, the lower and upper medulla oblongata, the mesencephalon, the thalamus and the motor cortex of each monkey, as a minimum, shall be subjected to histological examination.

No apparent difference shall be detected between the test sample and the Reference Virus of the same type in the overall result on the character, severity, extent of the histological lesions and the clinical signs.

3.3. Control tests on final bulk.

3.3.1. Sterility test.

The test (1) and (2) given in General Testing Methods shall apply.

3.4. Control tests on final product.

3.4.1. Sterility test.

3.2.3.4.2. Aşının ve inoküle edilen referans preparatın virus miktarı

Aşı homotipik referans preparatın virus miktarı, eğer mümkünse birbirine yakın olmalı ve 10 - 10^{6.5} CCID₅₀/0.1ml arasında bulunmalıdır.

3.2.3.4.3. Maymunların gözlenmesi

Bütün maymunlar, polio virüs semptomları ve diğer virüs enfeksiyonları için 17 - 22 gün gözlenir. Enfeksiyondan sonra ilk 24 saat hayatta kalmış fakat 11 . günden önce ölen maymunlar, ölüm sebebinin polio virüsü olup olmadığını anlamak amacıyla otopsiye alınır eğer ölümler polio virüsü dışında başka bir sebepten olmuş ise değerlendirme dışı bırakılır .

Gözlem süresinin sonunda yaşayan bütün maymunlar otopsiye alınır. Tesirin geçeri olabilmesi için her gruptaki hayvanların % 20 sinden fazlası, gözlem süresince birbirlerine bulaşırma belirtileri göstermemelidir.

3.2.3.4.4. Histolojik muayene

Her maymun lomber ve servikal iliakları aşağı ve yukarı medulla oblongata , mesencefalon, thalamus ve motor korteksi histolojik muayeneden geçirilmelidir.

Karakter, etki, histolojik lezyonların derecesi, klinik belirtilere bağlı olarak aynı tiplerin referans virüsleri ve test örnekleri arasında açıkça bir fark saptanmamalıdır.

3.3. Final bulkteki kontrol testleri

3.3.1. Sterilite testi

Genel test metodlarında verilen (1) ve (2)'deki testler uygulanır.

3.4. Final ürünlerdeki kontrol testleri

3.4.1. Sterilite testi

The test (1) and (2) given in General Testing Methods shall apply.

3.4.2. Test for virus content

The test sample shall be treated with immune sera against each type of poliovirus other than the type to be tested to determine the virus content of the particular type.

The virus content of each type shall be in accordance with that stated on the label.

3.4.3. Identity test.

The test shall be conducted by examining for cytopathic effects on cell cultures and neutralization by anti-poliovirus immune sera.

4. Storage and dating period.

The temperature for storage shall be -20°C or lower.

The dating period shall be 2 years.

5. Other requirements.

5.1. Modification of the proper name.

For monotypic or bitypic products, the type of the contained viruses shall be added to the proper name.

5.2. Labelling.

1. Virus content of each type.
2. Caution to be restricted for oral use only.

5.3. Information to be given in the affixed leaflet

1. Name(s) of strain(s) used for production.
2. Name of cell culture used for cultivation of the virus.
3. Name and content of antibiotics used in cultivation of virus, if applicable.
4. Recommended human dose, route and interval of administration.

Genel test metodlarında verilen (1) ve (2)'deki testler uygulanır.

3.4.2. Virüs miktar testi

Test örneğinde, her tipin virüs miktarına karar vermek için test edilecek tip dışında diğer polio virüs tiplerine karşı immün serumla muamele edilir. Her tipin virüs miktarı, etiketinde belirtilen değere uygun olmalıdır. Virüs miktarı tip 1 için 10^{6.0} CCID₅₀ tip 2 için 10^{5.0} CCID₅₀ ve tip 3 için 10^{5.5} CCID₅₀ insan dozu içermelidir.

3.4.3 İdentite testi

Test hücre kültüründe sitopatojenik etkinin gözlenmesine göre değerlendirilir. Ve anti-polio immün serumla nötrölyze edilir.

4-Depolama ve kullanma süresi

Depolama sıcaklığı -20 oC veya altında olmalıdır.

Kullanma süresi 2 yıl olmalıdır.

5-Diğer gereklilikler

5-1 İsimlendirmeler

Esas isme, ierilen virüs tiplerine göre monotipik, bitipik ürün gibi adlar eklenir.

5-2 Etiket

- 1-Her tipin virüs miktarı
- 2-Yalnızca oral kullanıma uygun olduğu bildirilmeli,

5.3 Prospektüsünde verilecek bilgiler

- 1-Üretimde kullanılan virüs suşlarının adları,
- 2-Virüs üretiminde kullanılan virüs suşunun adı,
- 3-Eğer virüs üretiminde antibiyotik veya boya kullanılıyorsa ienikleri ve isimleri,
- 4-Önerilen insan dozu, uygulama şekli ve hangi aralıklarla yapılacağı belirtilmelidir.

DRIED LIVE MEASLES VACCINE.

1. Definition and property

Dried Live Measles Vaccine is a dried product containing attenuated measles virus (hereafter referred to as "virus"). When reconstituted, it becomes a transparent liquid preparation.

2. Production control

2.1. Source of materials

2.1.1. Strains of virus used for production

Strains of virus approved to be adequate for production shall be used.

The virus contained in the product shall be passed under the approved culture and shall not undergo more than five passages removed from the virus seed used in the preparation of a vaccine shown to be immunogenic and safe in man.

2.1.2. Cell cultures used for production

For cultivation of virus shall be used chick-embryos cell cultures, the eggs used as a source of cells shall be derived from healthy flocks free from infectious diseases.

2.1.3. Culture media

The cell culture medium may be added with appropriate cell growth promoting substances, phenolred at a concentration no higher than 0.002w/v%, and minimal amounts of antibiotics, except penicillin. If serum or its fraction is added to the medium its concentration in the final bulk shall be no higher than 0.0001w/v%.

The medium suitable for propagation of each strain of virus shall be used. The culture medium used for propagation of virus may be added with phenolred at a concentration no higher than 0.002w/v%, appropriate stabilizing substances and minimal amounts of antibiotics. However, no serum, its fraction nor penicillin shall be added.

KURUTULMUŞ CANLI KIZAMIK AŞISI

1- Tanım ve özellikler

Zayıflatılmış kizamik virüsü ieren kurutulmuş bir üründür. Sulandırıldığında, saydam sıvı bir preparattır.

2-Üretim kontrolü

2.1. Kaynak maddeler

2.1.1 Üretimde kullanılan virüs suşları:

Üretim için faydalı olacak onaylanmış virüs suşları kullanılacaktır.

Ürünün ierdėi virüs, onaylanmış kültür de uygulanacak ve insan için emniyetli ve immünojenik olduğu gösterilen bir aő preparatında kullanılan virüs tohumdan ayrıldıktan sonra beş pasajdan fazla yapılmayacaktır.

2.1.2 Üretimde kullanılan hücre kültürü:

Virüs yetiőtirmek için, tavuk embriyosu hücre kültürü kullanılacak, buluőacı hastalık taőımayan sağlıklı gruplardan elde edilen yumurtalar hücre kaynağı olarak kullanılacak.

2.1.3 Kültür Vasatı:

Hücre kültürü vasatına, hücrenin büyümesini arttırıcı uygun maddeler, konsantrasyonu ve %0.002 W/V'den fazla olmayacak şekilde fenolred ve penisilin hari minimum miktarda antibiyotik ilave edilebilir. Eğer vasata serum veya serum fraksiyonları ilave ediliyorsa, bunun konsantrasyonu final bulkda %0.0001 W/V 'den fazla olmayacaktır.

Her virüs suşu üretmek için uygun vasat kullanılacaktır. Virüs üretmek için kullanılacak kültür vasatına, konsantrasyonu %0.002 W/V'den fazla olmayacak şekilde fenolred, uygun stabilizör maddeler ve minimum miktarda antibiyotik ilave edilebilir. Ve serum ve serum fonksiyonları ne de penisilin ilave edilmeyecektir.

2.2. Bulk materials

2.2.1. Chick embryo cell culture

The cell cultures handled in one session shall be regarded as the individual cell cultures.

2.2.2. Virus suspension

The virus suspension from the individual cell cultures shall be harvested and pooled to serve as the single harvest.

The single harvest shall be subjected to the tests prescribed in 3.2.1.

The single harvests shall be pooled to make the virus suspension before clarification. Any appropriate stabilizing agent may be added to the virus suspension before clarification.

The virus suspension before clarification shall be subjected to the tests prescribed in 3.2.2.

2.2.3. Clarification

The virus suspension before clarification shall be clarified by a method that will remove cells and cell debris to make the bulk material.

2.3. Final bulk and freeze-drying

The bulk materials shall be mixed and diluted, if necessary, to make the final bulk. Appropriate stabilizing substances may be added. However, antibiotics shall not be added.

The final bulk shall be dispensed into final containers and freeze-dried.

The final bulk shall be subjected to the tests prescribed 3.4.

3. Control tests

3.1. Control tests on cell culture

A quantity of 5% of individual cell culture or a quantity corresponding to 500ml shall be used as the control cell cultures.

The control cell cultures shall be subjected to the tests given below.

2.2. Bulk materyaller

2.2.1 Tavuk embriyo hücre kültürü:

Bir çalışmada kullanılan hücre kültürleri, birey hücre kültürü gibi sayılacak.

2.2.2 Virüs süspansiyonu:

Birey hücre kültürlerinde süspansiyon edilen virüs hasatlanacak ve tek hasat olarak hizmet etmek üzere toplanacak.

Tek hasat 3.2.1 de tarif edilen testlere tabii olacaktır.

Safılaştırmadan önce, virüs süspansiyonu yapmak için tek hasatlar toplanacak. Safılaştırmadan önce virüs süspansiyonuna uygun her hangi bir stabilizör madden eklenebilir.

Safılaştırmadan önceki virüs süspansiyonu 3.2.2 de tarif edilen testlere tabii olacaktır.

2.2.3 Safılaştırma

Safılaştırmadan önceki virüs süspansiyonu, bulk yapmak için hücreleri ve hücre kalıntılarını uzaklaştıracak bir metotla safılaştırılacak.

2.3 Final bulk ve dondurarak kurutma

Eğer gerekli ise final bulk yapmak için bulk maddeleri karıştırılacak ve sulandırılacak. Uygun stabilizör maddeler ilave edilecek. Ancak, antibiyotik ilave edilmeyecek.

Final bulk, final kaplanına dağıtılacak ve dondurarak kurutulacak.

Final bulk, 3.4 de tarif edilen testlere tabii olacak.

3 Kontrol testleri

3.1 Hücre kültüründeki kontrol testleri

Kontrol hücre kültürü olarak, birey hücre kültürünün %5'lik miktar veya 500 ml'ye karşılık gelen miktar kullanılacak.

Kontrol hücre kültürleri aşağıda verilen testlere tabii olacaktır.

3.1.1. Observation of cell cultures

The control cell cultures shall be incubated without being inoculated with virus under the same conditions as the culture of virus. No cytopathic change due to extraneous virus shall be detected. During the observation period, cultures discarded due to any non-specific or accidental reason shall be less than 20% of the total control cell cultures.

3.1.2. Test in cell cultures

At the end of the above observation period, the culture medium shall be harvested from each vessel, pooled, if necessary, and subjected to the tests prescribed in 3.2.2.3.

3.1.3. Test for avian leucosis virus

A 25-ml portion of the test sample shall be inoculated into primary cultures of chick embryo cells. When the cell cultures are serially passaged for three generations and challenged with Rous sarcoma virus, there shall be no sign of the presence of avian leucosis virus.

When the same cell cultures after three passages are examined by a direct immunofluorescent technique with the use of anti-reticuloendotheliosis virus serum, there shall be no sign of the presence of reticuloendotheliosis virus.

3.2. Control tests on virus suspension

3.2.1. Tests on single harvest

3.2.1.1. Sterility test

The tests (1), (2) and (3) given in GENERAL TEST SECTION shall apply.

3.2.1.2. Tests for virus content

The method given in 3.5.3. shall apply.

3.2.2. Tests on virus suspension before clarification

3.2.2.1. Sterility test

The tests (1), (2), (3) and (4) given in GENERAL TEST SECTION shall apply.

3.2.2.2. Tests for freedom from extraneous viruses

3.2.2.3. Tests in cell cultures

The tests shall be performed, if necessary, after neutralisation of virus with anti-measles serum. For neutralisation of virus antiserum prepared in animals except human, simian and avian.

3.1.1 Hücure kültürlerinin gözlenmesi

Kontrol hücre kültürleri, virüs kültürü ile aynı koşullarda virüs inoküle edilmeden inkübe edilecektir. Dış virüslere bağlı bir sitopatjenikdeğişiklik gözlenmeyecek. Gözler: süresince, spesifik olmayan veya kaza nedeniyle ekarte edilen hücreler, toplam kontrol hücre kültürlerinin % 20'sinden az olacaktır.

3.1.2. Hücure Kültürlerinde testi.

Yukarıdaki gözlem süresinin sonunda, her petriden hücre kültür vasatı hasatlanacak, toplanacak eğer gerekli ise 3.2.2.3. de tarif edilen testlere tabii olacak.

3.1.3. Avian Leucosis virüsleri için test

Test örneklerini 25 ml'lik bir bölümü, tavuk embriyo hücrelerinin primer kültürlerini inoküle edilecek.

Hücure kültürü 3 kez pasajlanıp, Rous Sarcoma virüsü ile challenge yapıldığı zaman, avian leucosis virüsünün varlığını gösteren bir işaret olmayacak.

Üç pasaj geçirmiş aynı hücre kültürleri, anti-reticuloendotheliosis virüs serumunda kullanımı ile direkt immunoforasan tekniikle muayene edildiği zaman, reticuloendotheliosis virüsünün varlığını gösterecek bir işaret olmayacak.

3.2 Virus süspansiyonundaki kontrol testleri

3.2.1 Tek hasatlı testler

3.2.1.1 Sterilite Testi

Genel test: bölümünde verilen 1,2 ve 3 No'lu testler uygulanacak.

3.2.1.2 Virüs miktar testi.

3.5.3 de verilen metod uygulanacak.

3.2.2 Saflaştırılmadan önceki virüs süspansiyonunda uygulanacak testler

3.2.2.1 Sterilite testi

Genel test bölümünde verilen 1,2,3 ve 4 No'lu testler uygulanacak.

3.2.2.2 Dış kaynaklı virüslerin bulunmadığını gösteren testler:

3.2.2.3 Hücure Kültüründeki Testler:

Testler, eğer gerekli ise kızamık anti-serumuyla virüs nötralizasyonundan sonra uygulanacaktır. Virüs nötralizasyonu için hayvanlarda hazırlanan antiserumlar kullanılabilir (insan, SIMIAN ve AVIAN hariç.)

3.2.2.3.1. Inoculation of human cell cultures

A equivalent to at least 500 human doses portion of the test sample shall be inoculated into human cell cultures. The inoculated cell cultures shall be incubated and observed for 14 days. No cytopathic change due to extraneous viruses shall be detected.

3.2.2.3.2. Inoculation of simian cell cultures

A equivalent to at least 500 human doses portion of the test sample shall be inoculated into simian cell cultures. The inoculated cell cultures shall be incubated and observed for 14 days. No cytopathic change due to extraneous viruses shall be detected.

3.2.2.3.3. Inoculation of chick embryo cell cultures

A equivalent to at least 500 human doses portion of the test sample shall be inoculated into chick embryo cell cultures. The inoculated cell cultures shall be incubated and observed for 14 days. No cytopathic change due to extraneous viruses shall be detected.

3.2.2.4. Inoculation of embryonated chicken eggs

A equivalent to at least 100 human doses portion of the test sample shall be inoculated at a dose of 0.25 ml into the allantoic cavities of at least twenty 11-day-old chicken embryonated eggs respectively. The inoculated eggs shall further be incubated for 3 days. Another portion of the test sample shall be inoculated each at a dose of 0.25 ml into the yolk sacs of at least twenty 6-day-old chicken embryonated eggs. The inoculated eggs shall further be incubated for 12 days.

No change due to extraneous viruses shall be detected.

3.3. Control tests on bulk material

3.3.1. Test for clarification

Microscopical observation of a smear a concentrated sample is a suitable for ensuring that no cells or cell debris shall be detected.

3.3.2. Test for virus content

The method given in 3.5.3. shall apply.

3.4. Control tests on final bulk

3.2.2.3.1 İnsan hücre kültürlerinin inokülasyonu:

Test örneklerinin en az 500 insan dozuna eşdeğer kısmı, insan hücre kültürlerine inoküle edilecektir. Inoküle edilmiş hücre kültürleri 14 gün boyunca inkübe edilip gözlenecektir. Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir sitopatojenik değişiklik saptanmayacaktır.

3.2.2.3.2 Simian hücre kültürlerinin inokülasyonu:

Test örneklerinin en az 500 insan dozuna eşdeğer kısmı, simian hücre kültürlerine inoküle edilecektir. Inoküle edilmiş hücre kültürleri 14 gün boyunca inkübe edilip gözlenecektir. Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir sitopatojenik değişiklik saptanmayacaktır.

3.2.2.3.3 Tavuk embriyo hücre kültürlerine inokülasyon

Test örneklerinin en az 500 insan dozuna eşdeğer kısmı, tavuk embriyo hücre kültürüne inoküle edilecektir. Inoküle edilmiş hücre kültürleri 14 gün boyunca inkübe edilip gözlenecektir. Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir sitopatojenik değişiklik saptanmayacaktır.

3.2.2.4 Ebrıyo oluşmuş tavuk yumurtalarının inokülasyonu

Test örneklerinin en az 100 insan dozuna eşdeğer kısmı, en az 20 tane 11 günlük embriyo oluşmuş tavuk yumurtalarının allantoik kavitelerine 0,25 ml'lik bir doz inoküle edilecektir. Daha sonra inoküle edilmiş yumurtalar 3 gün boyunca inkübe edilecektir. Test örneklerinin diğer yansı en az, 20 tane 6 günlük embriyo oluşmuş tavuk yumurtalarının allantoik kavitelerine 0,25 ml'lik bir doz inoküle edilecektir. Daha sonra inoküle edilmiş yumurtalar 3 gün boyunca inkübe edilecektir. Test örneklerinin diğer yansı en az 20 tane 6 günlük embriyo oluşmuş tavuk yumurtalarının yolk saklarına 0,25 ml'lik bir doz inoküle edilecektir. Daha sonra inoküle edilmiş yumurtalar 12 gün inkübe edilecektir.

Dış kaynaklı virüslerin sebep olabileceği bir değişiklik saptanmayacaktır.

3.3 Bulk material üzerindeki kontrol testleri

3.3.1 Safıştırma Testi

Hücre ve hücre kalıntılarının saptanmadığı bir konsantre örneğini Smear'ının mikroskopik gözlemi yeterlidir.

3.3.2 Virüs miktar testi

3.5.3 de verilen metod uygulanacak.

3.4 Final bulktaki kontrol testleri

3.4.1. Test for residual animal serum proteins

If serum has been used in the cell-culture system, a sample of the final bulk shall be tested to verify that the residual amount of serum albumin is less than 50 ng per single human dose.

3.5. Control tests on final product

The final product shall be subjected to the following tests, in this case, the test sample denote the final product reconstituted with accompanying solvent.

3.5.1. Identity test

Virus in the test sample shall be identified as measles virus by appropriate methods.

3.5.2. Sterility test

The test (1) and (2) given in GENERAL TEST SECTION shall apply.

3.5.3. Test for virus content

The titration of virus performed in suitable cell cultures systems shall constitute the measure of potency of live virus. The virus content of the test sample shall be no less than 1000 infective units per one human dose.

3.5.4. Thermostability test

Test is carried out on freeze-dried vaccine by heating at 37 C for 7 days. The virus concentration after this period is not more than 1 log 10 lower than the virus titer of the test given in 3.5.3, and in any case must not be less than CCID 50 per dose.

3.5.5. Abnormal toxicity test

The test given in GENERAL TEST SECTION shall apply.

3.5.6. Test for moisture content.

The moisture content shall be no higher than 2% when tested following procedures given in GENERAL TEST SECTION.

4. Storage and dating period

The temperature for storage shall be 5o C or lower. The dating period shall be one year.

5. Other requirements

5.1. Information to be given in the affixed leaflet.

- 1.Name of virus strain used for production.
- 2.Name of cell culture used for cultivation of the virus.
- 3.Names and contents of the antibiotics or the dye use in

3.4.1 Hayvan Serum Proteinleri Kalıntı Testi

Eğer hücre kültür sisteminde serum kullanıldıysa bir final bulk örneğindeki kalan serum albumin miktarı bir insan dozunda 50 ng'den az olmalıdır.

3.5 Final üründeki kontrol testleri

Kendi sulandırıcısı ile sulandırılan final ürün test örneği olacaktır ve aşağıda belirtilen testler uygulanacaktır.

3.5.1 İdentite Testi

Uygun bir metotla, test örneğindeki virüsün, kızamık virüsü olduğu tanımlanacaktır.

3.5.2 Sterilite Testi

Genel test bölümünde verilen 1 ve 2 testler uygulanacaktır.

3.5.3 Virüs Miktar Testi

Uygun hücre kültürlerinde uygulanan virüs titrasyonu, canlı virüsün potansinin ölçülmesini içerir. Test örneğindeki virüs miktarı bir insan dozunda 1000 TCID50'den az olmayacaktır.

3.5.4 Thermostabilite testi

Liyofilize aşısı 37 C de 7 gün bekletilir. Bu süre sonunda virüs miktarı 3.5.3. te verilen testin virüs miktarı ile karşılaştırıldığında aradaki fark 1 log 10' dan fazla olmamalıdır ve 1000 CCID 50/ doz dan az olmamalıdır.

3.5.5. Abnormal Toksisite Testi

Genel test bölümünde verilen testler uygulanacaktır.

3.5.6.Nem miktarı tayini

Genel test bölümünde verilen prosedüre göre nem miktarı %2'den fazla olmayacak.

4.Depolama ve kullanma süresi

Depolama ısısı 5 °C veya altında olmalı.

Kullanma süresi 1 yıldır.

5 Diğer gereksinimler

5.1 Prospektüsün de verilecek bilgi

- 1- Üretimde kullanılan virüs suşunun adı,
- 2-Virüs üretimin de kullanılan hücre kültürünün adı,
- 3-Eğer kullanılıyorsa, virüs üretiminde kullanılan antibiyotik veya boyaların içerikleri ve

cultivation of virus if applicable.

4. Names and contents of stabilising substances, if used.

5. Following recommended human dose and route of administration:
Usually, 0.5 ml is injected subcutaneously.

isimleri,

4- Eğer stabilizör kullanılıyorsa ismi ve içeriği,

5- Önerilen insan dozu ve uygulanma şekli,
Genellikle 0.5 ml'lik deri altı enjeksiyon yapılır.

TESTS FOR STERILITY

The sterility tests are methods to test for freedom from microorganisms detectable by the following procedures.

(1) Sterility tests for bacteria and fungi

The tests are carried out by direct inoculation method or membran filtration method.

1.1. Direct Inoculation Method

The specified volume of test sample is inoculated directly into the culture medium.

1.1.1. Culture Media

Fluid thioglycolate medium I (TG-I) : This medium is used for bacterial sterility tests and for fungal sterility test of test samples.

Fluid thioglycolate medium I (TG-II) : This medium is used for the testing of turbid or viscous samples. Soybean casein medium (SCD); This medium is used for fungal sterility tests.

The volume of medium is prepared usually 15 ml per vessel except for such test samples expected to contain preservatives at the high concentration that defined in each Monograph. In such cases the volume of medium shall be two times or more.

1.1.2. Sampling volume of inoculum and number of culture vessels

The volume of samples taken from final bulk or earlier stages of manufacture shall be sufficient to perform the test prescribed in Table I, unless elsewhere specified.

Samples of final containers shall be taken at random from each lot or each filling lot.

TABLE I Sampling from final bulk or from earlier stages of manufacture, volume of inoculum per vessel of culture medium, and number of vessels.

Test	Volume of sample	Volume of inoculum per vessel	Number of vessels To be inoculated with the respective volume
Final bulk	Bacterial	12 ml	8
	Fungal	1 ml,	8
		0.5 ml	8
Earlier stages of manufacture	Bacterial	1 ml	8
		0.5 ml	8
	Fungal	0.5 ml,	8
		0.25 ml	8

STERILITE TESTLER

Sterilite testleri aşağıdaki işlemler vasıtasıyla bulunması muhtemel canlı mikroorganizmaların teşhisi için uygulanan yöntemlerdir.

(1) Sterilite testleri (Bakteri ve mantarlar için)

Bu testler ya direkt ekim yada süzme (membran filtrasyon) metodu ile yapılır.

1.1 Direkt Ekim Metodu

Test numunesinin belirlenen hacmi doğrudan kültür vasatına ekilir.

1.1.1. Kültür vasatı

Sıvı Thioglycolate vasatı (TG I) : Bu vasat bakteriyel ve fungal sterilite testleri için kullanılır. Sıvı (TGII) vasatı; Bu vasat ise; Bulanık yoğun veya yapışkan numuneleri test etmede kullanılır.

Soya bean Casein Digest (SCD) Vasatı; Bu vasat fungal sterilite testleri için kullanılır.

Vasatın hacmi, her monografya belirlenen yüksek konsantrasyonda prezervatifler ihtiva etmesi beklenen böyle test örnekleri hariç, genellikle her tüp için 15 ml hazırlanır. Böyle durumlarda vasatın hacmi iki kat veya daha fazla olacaktır.

1.1.2. Ekim hacmini seçme ve kültür tüplerinin sayısı

Final bulk veya üretimin erken safhalarından alınan numunelerin hacmi, başka bir şekil belirlenmedikçe, Tablo I de verilen testi uygulamak yeterli olacaktır. Son ürünlerin örnekleri rasgele (randomizasyon) yada doldurulmuş kısımdan alınacaktır.

TABLE I Final bulk ve üretimin erken safhalarında alınacak numune miktarı; her bir tüpe ekilecek miktar ve ekilecek tüp sayısı

Test	Numune Miktarı	Her bir tüpe ekilecek miktar	Belirli miktardaki numunenin ekileceği tüp sayısı
Final Bulk	12 ml	1ml,	8
		0.5ml	8
Üretimin erken safhası	8 ml	1ml	8
		0.5ml,	8
Fungal	6 ml	0.5ml,	8
		0.25ml	8
Fungal	8 ml	1ml	8

Table 2. Number of final containers to be sampled in relation to the number of final containers in the lot or filling lot and to container content.

Number of final containers	Number of the final containers to be sampled	Content stated on the label
in the lot or filling lot	2.5 ml or more	1.5 ml or more but less than 2.5 ml
10 or less	1	2
11 - 50	2	4
51 - 100	3	6
101 - 150	4	8
151 - 200	5	10
201 - 250	6	12
251 - 300	7	14
301 - 350	8	16
351 - 400	9	18
401 or more	10	20
		less than 1.5 ml
10 or less		3
11 - 50		6
51 - 100		9
101 - 150		12
151 - 200		15
201 - 250		18
251 - 300		21
301 - 350		24
351 - 400		27
401 or more		30

Tablo 2. Seride veya dolum serisindeki numune sayısına bağlı olarak; numunelerin ieninin miktarı ve numune sayısı

Seride veya dolum serisindeki son ürünün sayısı	2.5 ml veya daha ok (1.5 - 2.5 ml)	Etietlenmiş son ürün sayısı
10 or less	1	2
11 - 50	2	4
51 - 100	3	6
101 - 150	4	8
151 - 200	5	10
201 - 250	6	12
251 - 300	7	14
301 - 350	8	16
351 - 400	9	18
401 veya ok	10	20
		1.5 ml den az
10 or less		3
11 - 50		6
51 - 100		9
101 - 150		12
151 - 200		15
201 - 250		18
251 - 300		21
301 - 350		24
351 - 400		27
401 veya ok		30

Table 3. Volume to be taken from each final container in relation to container content stated on the label

Test	Content stated on the label	Volume to be taken from each container	Number of test vessel per container	Volume of inoculum per vessel
Bacterial	less than 1 ml	content stated on the label	1	content stated on the label
	1 ml or more but less than 1.5 ml	1 or 0.5 ml	1	1 or 0.5 ml
	1.5 ml or more	1.5 ml	2	1 ml 0.5 ml
Fungal	less than 1 ml	content stated on the label	1	content stated on the label
	1 ml or more	1 ml	1	1 ml

Tablo 3. Etietinde belirtilen miktara gre her bir son rnden alınacak miktar.

Test	Etiette belirtilen miktar	Her kaptan alınacak miktar	Her bir kap iin kullanılan test tp sayısı	Her bir test tpne ekilecek miktar
Bacterial	1 ml den az	tamamı	1	etiette belirtilen miktar (tamamı)
	1 ml < 1.5 ml <	1 veya 0.5 ml	1	1 veya 0.5 ml
	1.5 ml veya ok	1.5 ml	2	1 ml 0.5 ml
Fungal	1 ml den az	tamamı	1	etiette belirtilen miktar (tamamı)
	1 ml veya ok	1 ml	1	1 ml

1.1.3. Incubation and observation

The vessels inoculated for bacterial sterility test shall be incubated at 30 - 35 C and those inoculated for fungal sterility test at 20 - 25 C for not less than 14 days. They shall be examined for evidence of microbial growth on the third, seventh and fourteenth days of incubation.

If the test sample makes the medium turbid to such an extent that it is difficult to deny the possibility of microbial growth by visual examination, suitable portions of the turbid medium shall be transferred from each of vessels to fresh vessels of the same medium on the seventh day of incubation. The additional vessels shall be incubated at the same temperature for 8 days and examined.

1.1.4 Criterion for judgement

If no evidence of microbial growth is found, the product tested meets the requirements of the test for sterility.

1.2 Test procedures using membran filtration

The procedures are usually applicable to filterable products at the stages of final bulk or earlier and those in final containers filled with 100ml or more.

1.2.1 Culture media

The media specified in 1.1.1 shall be used. Volume of each medium is usually 100ml. per vessel.

1.2.2 Apparatus

A membrane having a nominal porosity of 0.45 ± 0.02 μ m, a diameter of approximately 47 mm and a flow rate of 55 to 75 ml of water per minute under pressure of 700mm Hg shall be used.

1.2.3. Rinsing Fluid

Casein peptone 1 gr
Distile water 1000 ml
pH after sterilization 7.1 ± 0.2

Peptone is dissolved in water. The solution is adjusted so that, after sterilization, it will have a pH of 7.1 ± 0.2 , dispensed into containers in 100 ml quantities, and sterilized.

1.2.4. Sampling and volumes to be filtered

Volume of test sample taken from final bulk or earlier stages of manufacture shall be 100 ml

Number of final containers to be sampled shall conform to paragraph 1.1.2.

Volume to be filtrated shall be 100 ml for test sample from final bulk or earlier stages and shall be whole contents for sample from containers. However, when the volume of liquid in a container is greater than 500 ml, 500 ml shall be used.

1.1.3. Inkübasyon ve Gözlem

Bakteriyel sterilite testleri için 30 - 35 C'de, Mantarlar için 20 - 25 C'de en az 14 gün inkübe edilecektir. Inkübasyonun 3., 7. ve 14. günleri üreme olup olmadığı gözlenecektir. Gözlem sırasında eğer test numunesi, mikrobik gelişme gösterecek derecede vasatı bulanıklaşmışsa, inkübasyonun 7. gününde bulanık vasattan alınan uygun örnekler yeni bir tüpe aktarılacaktır. 8 günlük süre içinde aynı derece ısıda inkübe edilip gözlenecektir.

1.1.4. Karar

Eğer ekilmiş tüplerin hiçbirisinde mikrobiyal gelişim bulunmazsa sterilite testleri geçerlidir.

1.2. Membran Filtrasyon Metodu

Bu metod final (son) üründe veya üretimin erken safhalarından alınan ve içeriği 100 ml ve daha fazla olan ve filtre edilebilen ürünler için uygulanır

1.2.1. Kültür Vasatı

Herbir vasat miktarı genellikle her tüp için 100 er ml'dir.

1.2.2. Aparat

Membran, 0.45 ± 0.02 μ m gözenekli 47 mm çapında olmalı ve 700 mm Hg basınç altında 55 - 75 ml su akış hızına sahip bir cihaz olmalıdır

1.2.3. Çalkalama solusyonu

Casein pepton 1 gr
Distile vater 1000ml
pH sterilizasyondan sonra 7.1 ± 0.2

Pepton suda eritilir, solusyonun pH sı ayarlanır, 100ml cam şişelere dağılıp sterilize edilir.

1.2.4. Numune alımı ve süzülecek miktar

Test numunesinin miktarı (final bulk yada üretimin erken safhalarından), mutlaka 100ml olacaktır. Denenecek final serilerin sayısı paragraf 1.1.2.'dekine uyacaktır.

Final bulk veya üretimin eski safhalarından alınmış test örneği için süzülecek hacim 100 ml olacaktır. Bununla beraber son hacmin miktar 500 ml' den fazla ise mutlaka 500 ml'si kullanılacaktır.

1.2.5. Procedures

The required volume of sample are transferred to one or two separate membran filter funnels and filtered under the aseptic condition. The membran is rinsed with three 100ml portions of rinsing fluid. The membran shall be incubated by either of the two methods described below.

- 1- The membran(s) is (are) removed from the holder(s). When one membran is used it is cut into two equal parts. One of the two entire membran or one half of membran is transferred to each of the culture media specified.
- 2- Each specified medium is transferred onto the membran in apparatus and it is sealed so that the medium remains on the membran.

If the product is not readily filterable, the sample may be diluted with rinsing fluid prior to filtration.

1.2.6. Incubation and observation

The procedure shall be as prescribed in paragraph 1.1.3.

1.2.7. Test for adsorption of microbial growth inhibiting substance to membrane filter

Whenever a product possibly shows microbial growth-inhibiting activity, it shall have been determined whether or not the inhibitors are adsorbed to membrane or are not readily removed by rinsing the membrane.

The volume of sample specified in paragraph 1.2.4 is filtered through each of the sufficient number of membranes for all the bacterial and fungal strains to be used. The membranes are rinsed twice. Rinsing fluid containing approximately 100 viable microorganisms of each of the suitable strains bacteria or fungi sensitive to the product being tested is filtered. Each membran is placed onto the agar plate medium suitable for each test strain and incubated at the appropriate temperature. If the growth of any test organism is poor, the inhibitors in the product are regarded as adsorbed to the membran filter. In such a case exhibition of the microbial growth-inhibiting activity shall be supported by suitable means such as employment of other membran filters composed of less adsorptive materials, increase in the number of portions of rinsing fluid specified in paragraph 1.2.5. or addition of suitable inactivating agent to rinsing fluid.

1.2.8. Critation for judgement

Test results shall be interpreted as prescribed in paragraph 1.1.4.

1.2.5. Prosedür (Testin Yapılışı)

Test edilecek numune aseptik şartlarda alınıp membran filtreden süzülür, 100 ml lik yıkama solusyonu ile yıkanır. Sonra;

- 1- Cihazdaki aparat tek ise (filtre + sistem) tek ise; filtre ikiye kesilip yarısı TG I vasatına diğeri SCD vasatına aseptik şartlarda aktarılır.
- 2- Cihazdaki filtre + sistem iki adet olup ayrı ayrı kurumuş ise; 1 . filtre bulunan bölüme TG I vasatı 2. filtre bulunan kısma ise SCD vasatı aktarılır.

Eğer ürün kolayca filtre edilemiyorsa, örnek, çalkalama solusyonu ile sulandırıldıktan sonra filtre edilir

1.2.6. İnkübasyon ve Gözlem

1.1.3. deki gibidir

1.2.7. Mikrobiyal Büyüme Yönlendiren Maddelerin Membran Filtreye Absorbsiyonu Testi

Bir ürün mikrobiyal üremeyi inhibe edici aktivite gösterdiğinde; inhibitörlerin, membrana adsorblanıp adsorblanmadığı veya membranı çalkalamakla ortadan kaldırılıp kaldırılmadığı mutlaka tespit edilmiş olmalıdır.

Paragraf 1.2.4. de belirtilen sayıda numune kullanılacak bakteri ve mantar suşuna yetecek sayıda filtreden süzülür. Membranlar ikiye defa yıkanır. Test edilecek ürüne hassas uygun bakteri veya mantar suşlarının herbirinden 100 canlı mikroorganizma iktiva eden durulama sıvısı filtre edilir. Her membran test suşu için uygun agar plate besiyeri üzerine yerleştirilir uygun sıcaklıkta inkübe edilir. Eğer üreme zayıf ise; ürün içinde üremeyi önleyici maddenin membran filtre üzerine adsorbe olduğuna karar verilir

Böyle durumlarda daha az adsorbe edici maddeden oluşan filtrelerin kullanılması paragraf 1.2.5. te tarif edildiği gibi, yıkama sıvısının miktarının artırılması veya yıkama sıvısına uygun bir inaktive edici madde ilave edilmesi gerekir

1.2.8. Karar

1.1.4' teki gibidir.

(2) Sterility test for Mycoplasmas

2.1. Culture media

Agar plate medium for mycoplasma sterility test (hereafter referred to as "agar medium plate") and broth medium for mycoplasma sterility test (hereafter referred to as "broth medium") are used.

2.2. Sampling

The volume of test sample from final bulk or earlier stages of manufacture shall be 8ml. Samples shall be stored either between 2 C and 8 C for not longer than 24 hours or at -20 C or lower if stored for longer than 24 hours.

2.3 Culture and observation

Both agar and broth cultures shall be employed.

2.3.1. Broth cultures

A 0.2 ml portion of the test sample shall be inoculated into each of not less than 20 vessels containing 10 ml of broth medium.

One half of the vessels shall be incubated aerobically and the other half anaerobically at 36 ± 1 C for not less than 14 days. On the fourth and fourteenth days of incubation, 0.2 ml of broth culture from each vessel shall be subcultured onto each of agar medium plates. The plates inoculated with aerobic and anaerobic broth culture shall be incubated aerobically or anaerobically, respectively.

After the subculture on the 14th day, the remaining broth cultures shall be stored at -20 C or lower until the completion of the test.

2.3.2. Agar cultures

A 0.2 ml portion of test sample shall be inoculated over the surface of each of not less than 10 agar medium plates.

After the surfaces of the inoculated plates are dried, one half of the plates shall be incubated aerobically and the other half anaerobically at 36 ± 1 C.

2.3.3. Observation

All the plates after incubation for not less than 14 days shall be examined microscopically for mycoplasma colonies. Structures on the agar surface suspected to be mycoplasma colonies are then stained with the Dienes stain solution and observed microscopically.

2.4. Critation for judgement

If no evidence is found of the presence of mycoplasmas, the material meets the requirement of this test.

(2) Mycoplasmas için sterilite testi

2.1. Kültür Vasatı

Agar plate vasatı ve broth vasatı kullanılmaktadır.

2.2. Numune Alma

Final bulktan veya üretimin diğer erken safhalarından mutlaka 8 ml alınacaktır. Numuneler 2 - 8 C 'de 24 saat veya - 20 C 'de daha uzun süre saklanacaktır.

2.3. Kültür ve gözlem

Broth ve agar kültürler incelenecektir.

2.3.1. Broth kültürler

Herbiriinde 10 ar ml sıvı vasat bulunan tüp içine, test edilecek numuneden 0.2 şer ml eklilecek ve ekim yapılan besiyerinin yansı aerob, yansı anaerob olarak 36 ± 1 C de 14 gün inkübe edilecektir.

Inkübasyonun 4. ve 14. günü sıvı tüplerin herbirinden 0.2 şer ml alınarak agar plaklara pasaj yapılacaktır.

Aerob ve anaerob şartlarda 36 ± 1 C 4de inkübe edilecek ve pasajdan sonraki 14. gün sıvı kültürler - 20 C veya daha aşağı derecede test tamamlanuncaya kadar saklanacaktır.

2.3.2. Agar kültürler

10 Agar plaktan daha az olmayacak şekilde her bir plak yüzeyine test edilecek numuneden 0.2 ml eklilecek. İnokulasyondan sonra agar yüzeyleri kurutulup, yansı aerobik, diğer yansı anaerobik koşullarda 36 ± 1 C 'de inkübe edilecektir.

2.3.3. Gözlem

Plaklar 14 gün süre ile mikroskop altında incelenir Mycoplasma kolonileri olup olmadığı gözlenir. Agar yüzeyinde şüpheli olabilecek yapılar sonra Dienes solusyonu ile boyanarak mikroskopik olarak gözlenecektir.

2.4 Karar

Hiçbir Mycoplasma bulunmayışı kriterdir

Test for Freedom from Abnormal Toxicity

The test is conducted by the following two, (1) and (2), unless elsewhere specified.

1. Test in guinea pigs

1.1 Animals

Guinea pigs weighing between 300-350 g, having shown no signs of disease and a normal increase in body weight during a quarantine period of at least 5 days are used.

1.2 Test dose

5 ml per animal is used, unless elsewhere specified.

1.3 Test procedure

Two animals are used for each test sample. The test sample is injected intraperitoneally, and the animals are observed for a period of not less than 7 days.

1.4 Criterion for judgment

- They survive the test period.
- They appear in overt good health.
- They weigh no less at the end of the test period than at the time of injection.

2. Test in mice

2.1 Animals

About five week old mice having shown no signs of disease and a normal increase in body weight during a quarantine period of at least 5 days are used.

2.2 Test dose

Half ml per animal is used, unless elsewhere specified.

2.3 Test procedure

Five animals are used for each test sample. The test sample is injected intraperitoneally, and the animals are observed for a period of not less than 7 days.

2.4 Criterion for judgment

- They survive the test period.
- They appear in overt good health.
- They weigh no less at the end of the test period than at the time of injection.

Zararsızlık Testi

Başka bir özellik belirtilmediyse, test aşağıdaki gibi yapılır

1. Kobaylarda Testi

1.1. Deneysel Hayvanları

Yaklaşık 300-350 g ağırlığında, hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen, en az 5 günlük karantina süresinde normal bir vücut ağırlığı artışı gösteren kobaylar kullanılır.

1.2. Test Dozu

Başka bir özellik belirtilmediyse, her hayvan için 5 ml kullanılır

1.3. Testin Yapılışı

Her bir numune için iki hayvan kullanılır. Test numunesi periton içi zerk edilir ve hayvanlar 7 günden az olmayan bir süre gözetim altında tutulur.

1.4. Karar ve Kriterler

- Bütün hayvanlar, gözetim süresince canlı kalacak.
- Hiçbir hastalık belirtisi göstermeyecek.
- Enjeksiyon başlangıcındaki vücut ağırlığında azalma olmayacak.

2. Farelerde Testi

2.1. Deneysel Hayvanları

Yaklaşık beş haftalık, hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen, en az beş günlük karantina süresinde normal bir vücut ağırlığı artışı gösteren fareler kullanılır.

2.2. Test Dozu

Başka bir özellik belirtilmediyse, her hayvan için 0,5 ml kullanılır.

2.3. Testin Yapılışı

Her bir numune için 5 hayvan kullanılır. Test numunesi periton içi zerk edilir ve hayvanlar 7 günden az olmayan bir süre gözetim altında tutulur.

2.4. Karar için Kriterler

- Bütün hayvanlar, gözetim süresince canlı kalacak.
- Hiçbir hastalık belirtisi gösterme yecek.
- Enjeksiyon başlangıcındaki vücut ağırlığında azalma olmayacak.

GENERAL TESTING METHODS FOR PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS

1. Test for Aluminium Content:

1.1.Method:The aluminium content is determined by measuring the color developed by the reaction with stibazo. The test is conducted after insoluble salt of aluminium is solubilized.

1.2.Test Procedure:The test sample is shaken to make a homogeneous suspension. One ml of the suspension is taken accurately. Add with 0.2 ml of concentrated nitric acid. The mixture is boiled until the suspension become dissolved. Then the sample is so diluted in water as to make test dilution with an expected concentration of aluminium no higher than $4 \mu\text{g}$ per ml. 0.1 w/v % aluminium standart solution is diluted with water, so as to make the standart of aluminium dilutions of $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ and $4 \mu\text{g}/\text{ml}$. A 1 ml portion of each of the test dilution and the standart dilutions is taken accurately, and added with 2.5 ml of water, 1 ml of 1 M acetate buffer solution and 0.5 ml of stibazo test solution accurately. After keeping at room temperature for exactly 20 minutes, The mixtures are measured for absorbance at the wave length of 510 nm with a spectrophotometer. The values obtained with the standart dilutions are used for drawing a calibration curve. The aluminium content of the test dilution is calculated by interpolating the value obtained with the test dilution to the calibration curve, and the aluminium content in 1 ml of the test sample is calculated from its content of the test dilution. Correction is made by measuring the absorbance of water treated in the same way as above.

1.3.Solutions:

1.3.1. 0.1 w/v % aluminium standart solution:An amount of 895mg of aluminium chloride is taken accurately and dissolved in water to a final volume of 100 ml accurately.

1.3.2. 1 M acetate buffer solution:To one part of diluted acetic acid is added nine parts of the sodium acetate test solution and mixed. The pH shall be within a range between 5.55 and 5.75.

1.3.3. 1 N Dilute acetic acid:A 6 g of acetic acid Glacial is taken accurately and dissolved in water to a final volume of 100 ml.

1.3.4. 1 N Sodium acetate test solution: A 13.6 sodium acetate is taken accurately and dissolved in water to a final volume of 100 ml accurately.

FIZIKO-KİMYASAL ANALİZLER İÇİN GENEL TEST METODLARI

1. Alüminyum miktar tayini:

1.1. Metod: Alüminyumun stibazo ile reaksiyona girerek oluşturduğu rengin konsantrasyonu ölçülerek alüminyum miktarı hesaplanır.

1.2. Deneğin yapılışı: Deneğin numunesi çalkalayarak homojen bir süspansiyon yapılır.

Bir tüp içine Süspansiyondan tam olarak 1 ml alınıp üzerine 0.2 ml konsantre nitrik asit konur. Karışım kaynatılarak suyu tamamen buharlaştırılır. Sonra numune su ile dilüe edilerek bir ml'deki alüminyum konsantrasyonu $4 \mu\text{g}$ 'dan fazla olmayacak şekilde sulandırılarak test dilüsyonu yapılır. % 0.1 w/v alüminyum standart solüsyonu su ile dilüe edilerek $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ ve $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik standart dilüsyonları yapılır.

Standart ve numune dilüsyonlarının her birinden tam olarak 1'er ml deney tüplerine alınıp üzerine 2.5 ml distile su ilave edilir. Sonra 1 ml 1 M acetate buffer solüsyonundan ve 0.5 ml stibazo test solüsyonundan ilave edilerek karıştırılır. Oda sıcaklığında 20 dakika tutulur. Numune ve standartların absorbanası 510 nm de spektrofotometrede okunur.

Bulunan standart değerlerin absorbanaları ile bir kalibrasyon eğrisi çizilir. Numune dilüsyonlarının okunan değerleri kalibrasyon eğrisinde bulunarak alüminyum miktarı okunur ve alüminyum miktarı sulandırma oranı ile çarpılarak 1 ml'deki alüminyum miktarı hesaplanır. Aynı şekilde suyun absorbanası ölçülerek düzeltme yapılır.

1.3. Solüsyonlar:

1.3.1. %0.1 w/v alüminyum standart solüsyonu: 895 mg alüminyum klorid tam olarak tartılıp bir miktar distile suda entilir ve total hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

1.3.2. 1 M acetate buffer solüsyonu: Bir birim dilüe asetik asit dokuz birim sodyum asetat test solüsyonu alınıp karıştırılır. Karışımın pH'sı 5.55-5.75 arasında olmalıdır.

1.3.3. 1 N Dilüe asetik asit: 6 g glacial asetik asit hassas bir şekilde alınıp toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

1.3.4. 1 N Sodyum asetat test solüsyonu: 13.6 g Sodyum asetat tam olarak tartılıp distile suda entilir ve toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

1.3.5. **Stilbazo test solusyonu:** About 50 mg of stilbazo is taken, ground in a mortar. And added with water to make 100 ml. The mixture is filtered. (A 1 ml portion of the filtrate is taken accurately, added with 10 ml of 1 M acetate buffer solution, and 14 ml water, left to stand at room temperature for 20 minutes. The absorbance of the mixture at 420 nm and light path of 10 mm shall be more than 0.85.) When stored in dark at 2-5°C, the solution can be used for 2 weeks after preparation.

2. Test for Formaldehyde Content:

2.1. **Method:** The formaldehyde content is determined by measuring the intensity of the color of 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine resulting from the reaction with acetylacetone in the presence of excess of ammonium salt under the slightly acidic condition. The acceptance is assessed according to the criterion given in each Monograph.

2.2. **Test Procedure:** The 0.04 w/v formaldehyde standard solution is diluted with water so as to make 4,8,12 µg/ml of the standard dilutions. Each 5 ml of the diluted sample and the standard dilutions are taken, added with 5 ml each of acetylacetone solution and heated for 15 minutes in a boiling water bath. After the mixture is cooled down, the absorbance at 415 nm is determined. The values obtained with the standard dilutions are used for drawing a calibration curve. The formaldehyde content in the test sample is calculated from its content of the test dilution.

Correction is made by measuring the absorbance of water treated in the same way as above.

2.3. Solutions:

2.3.1. **0.04 w/v formaldehyde standard solution:** A 311 mg of hexamethylen tetramine is taken and dissolved in water to a final volume of 1000 ml accurately. The solution corresponds the concentration of 400 µg formaldehyde per ml.

2.3.2. **Acetylacetone solution:** A 150 g of ammonium acetate is taken accurately and dissolved in a aliquot of water. To the dissolved solution adds a 3 ml of acetic acid Glacial, a 2 ml of acetylacetone, and water to make a volume of 1000 ml. The acetylacetone solution is freshly prepared before use.

1.3.5. **Stilbazo test solusyonu:** 50 mg stilbazo tartılır bir havan içinde iyice ezilir. ve bu 100 ml distile su içinde çözülür. Filtre kağıdından süzülür(filtreden tam olarak 1 ml alınıp üzerine 1 M asetat buffer solusyonundan 10 ml ve distile sudan 14 ml konup iyice karıştırılır. Oda sıcaklığında 20 dakıka bekletilir. 420 nm dalga boyunda 10 mm lik küvetlerle absorbanası okunur. Bu değer 0.85 ten fazla olmalıdır. Stilbazo test solusyonu hazırlandıktan sonra 2-5 oC de saklanmalıdır. Bu çözelti en fazla 2 hafta kullanılabilir.

2. Formaldehit miktar tayini:

2.1. **Method:** Formaldehit asidik ortamda amonyum tuzu altında asetilasetonla reaksiyona girerek 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine renkli bileşğini oluşturur. Oluşan bu rengin konsantrasyonu ölçülerek formaldehit miktarı hesaplanır. Bulunan değerler her bir ürün için belirlenen kriterler arasında olmalıdır.

2.2. **Deneyin yapılışı:** % 0.04 w/v Formaldehit standart solusyonu distile su ile dilue edilerek 4,8,12 µg/ml standart dilusyonlar ı hazırlanır. Numune ve standart dilusyonlarından 5 er ml alınır ve her birinin üzerine 5 ml asetilaseton solusyonundan ilave edilip tüpler kaynar su banyosunda 15 dakika kaynatılır. Sonra tüpler soğutulur. Spektrofotometrede 415 nm de absorbanları okunur. Standart dilusyonlarının absorban değerleri ile grafik kağıdına bir kalibrasyon eğrisi çizilir. Numunelerin absorbanı bu kalibrasyon eğrisinden okunup sulandırma oranı ile çarpılarak formaldehit miktarı hesaplanır. Aynı şekilde distile su numunesi hazırlanıp kör olarak kullanılır.

2.3 Solusyonlar:

2.3.1. **% 0.04 w/v Formaldehit standart solusyonu:** 311 mg hexametilen tetramine tam olarak tartılıp bir miktar distile suda eritilip hacim distile su ile 1000 ml ye tamamlanır. Bu solusyonun konsantrasyonu 400 µg/ml dir.

2.3.2. **Asetil aseton solusyonu:** 150 g amonyum asetat tam olarak tartılır bir miktar distile suda eritilip üzerine 3 ml Glacial asetik asit ve 2 ml asetil aseton ilave edilerek toplam hacim distile su ile 1000 ml ye tamamlanır.

3. Test for Hydrogen Ion Concentration:

3.1. Method: The hydrogen ion concentration is measured with an appropriate instrument with a glass electrode.

3.2. Test procedure: The hydrogen ion concentration is expressed in terms of pH. The acceptance is assessed according to the criterion given in each Monograph.

4. Test for Protein Nitrogen Content:

4.1. Method: The protein nitrogen is determined by measuring the nitrogen in hot trichloroacetic acid precipitable protein in the test sample by micro Kjeldahl method. The acceptance is assessed according to the criterion given in each Monograph.

4.2. Test Procedure: An amount of the test sample containing 10-500 µg protein nitrogen is taken accurately. Placed in a centrifuge tube, to which one-tenth volume of a 50 w/v % trichloroacetic acid solution is added. The mixture is heated at 100 °C for 15 minutes. As for antitoxin, therapeutic sera, and blood products in each Monograph, this heat treatment is replaced by warming at either room temperature or 37 °C for 15 minutes. After cooled down. The mixture is centrifuged at over 1400 g for 10 minutes. To the precipitate an appropriate amount of a 5 w/v % trichloroacetic acid is added. The tube is shaken and centrifuged again. The precipitate is dissolved with a small amount of 1 N sodium hydroxide solution, and transferred into a combustion flask, to which about 70 mg of catalizer and a 0.5 ml of sulfuric acid are added. The combustion flask continues to be heated until the content become transferred with weak green color. The decomposed content is transferred into a micro Kjeldahl flask, to which a 3 ml of 30 w/v % sodium hydroxide is added. The nitrogen in the mixture is immediately distilled by passing steam through the mixture, trapped into a 5 ml of 4 w/v boric acid containing 3 dropps of the indicator until about 25-30 ml of distillate is collected. The distillate is titrated with a 0.01 N sulfuric acid until green color of the distillate become almost disappear (n. ml of 0.01 N sulfuric acid). Correction is made by repeating the test using water in place of the test sample to be examined (b ml 0.01 N sulfuric acid)

The protein content is calculated from the nitrogen content by the following formula: Protein content = 0.14007 (n-b) X 6.25

3. Hidrojen İyon Konsantrasyon Tayini:

3.1. Metod: Hidrojen iyon konsantrasyonu cam elektrodlu bir pH metre ile ölçülür.

3.2. Deneyin Yapılışı: Hidrojen iyon konsantrasyonu pH metrede ölçülerek sonuç pH değeri olarak verilir. Bulunan değerler her bir ürün için belirlenen kriterler arasında olmalıdır.

4. Protein Azotu Miktar Tayini:

4.1. Metod: Protein tayin edilecek numuneler triklor asetik asit ile sıcak su banyosunda çöktürülerek mikro Kjeldahl metodu ile protein nitrojeni bulunur. Bulunan değerler her bir ürün için belirlenen kriterler arasında olmalıdır.

4.2. Deneyin Yapılışı: İçinde 10-500 µg protein azotu içerecek şekilde numune hazırlanıp bir santrifüj tüpüne konur. Alınan numune miktarı kadar % 50 w/v triklor asetik asit solusyonu ilave edilir. Santrifüj tüpleri 100 °C da 15 dakika kaynatılır. Anitoksinler, antiserumlar ve kan ürünlerini kaynatılmayıp sadece oda sıcaklığında veya 37 °C da 15 dakika bekletilerek çöktürme işlemi yapılmış olur. Sonra tüplerin soğuması beklenir. Tüpler 1400 g'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpematant dışarı atılır. Çökelek üzerine % 5 lik triklor asetik asitten bir miktar konup çalkalanarak tekrar santrifüj edilir. Süpematant dışarı atılır. Çökelek üzerine az bir miktar 1 N sodyum hidroksit konup çökelek çözülür. Ve bu Kjeldahl balonuna aktarılır. Üzerine katalizör konsantrasyonundan 70 mg ve konsantre sülfürik asitten 0.5 ml ilave edilerek yakma ünitesine yerleştirilir. Kjeldahl balonundaki çözeltinin rengi açık berrak yeşil olana kadar yakma işlemine devam edilir. Yakma işlemi biten numune distilasyon balonuna aktarılır. Üzerine % 30 luk sodyum hidroksitten 3 ml ilave edilir. Oluşan buhar ile bu kanşım kaynatılarak distilasyon yapılır. Geri soğutucuda yoğunlaşımın buhar, içerisinde 5 ml % 4 w/v boric asit ve 3 damla indikatör bulunan bir erlen içerisinde 25-30 ml distilat toplanıncaya kadar distilasyona devam edilir. Ede edilen distilat 0.01 N sülfürik asit ile titre edilir (n ml 0.01 N sülfürik asit) Aynı şekilde distile su ile de bir kör deney yapılarak titreasyon yapılır (b ml 0.01 N sülfürik asit)

Bulunan protein azotundan protein miktar şu formülle hesaplanır.

Protein miktarı = 0.14007 (n - b) X 6.25

4.3. Solutions:

4.3.1. Catalyst: 9 g of potassium sulfate ground in a mortar is taken and mixed with a 1 g of cupric sulfate (anhydrous)

4.3.2. 30 w/v % sodium hydroxide: 30 g of sodium hydroxide is dissolved in a 70 ml of water.

4.3.3. Indicator: Both of a 0.3 g of Brome cresol Green and a 0.2 g of Metyl Red are dissolved in a 400 ml of 90 w/v % ethyl alcohol.

5. Test for Protein Content:

5.1. Method: The protein content is determined by measuring hot trichloro acetic acid precipitable protein in the test sample by the method of Lowry. The acceptance is assessed according to the criterion given in each Monograph.

5.2. Test Procedure: The test sample is diluted, if necessary, and adjusted its protein concentration to 20-120 µg/ml. the standart albumine for protein determination is accurately diluted with water so as to make the standart dilutions of 50, 100, 150 µg/ml. Each 1 ml of the test sample and the standart dilutions is accurately taken, added the same volume of 10 w/v % of trichloroacetic acid and heated for 15 minutes in a boiling water bath. After cooled down, the mixture is centrifuged for 20 minutes at over 1400 g. To the resulting precipitates a 2 ml of 5 w/v % trichloroacetic acid is added. The mixture is shaken well centrifuged again. The resulting precipitates are added with a 2.5 ml of the alkaline copper solution and dissolved by standing for over 10 minutes after shaking well. To the solution 2.5 ml of water and 0.5 ml of phenol reagent are added and the mixture are kept standing for 30 minutes at 37 o C. The absorbance of the solution is measured at the wave length of 750 nm with a spectrophotometer. The values obtained with the standart dilutions are used for drawing a calibration curve. The protein content of the test dilution is calculated by interpolating the value obtained with the test solution to the calibration curve, and the protein content in 1 ml of the test sample is calculated from its content of the test dilution. Correction is made by measuring the absorbance of water treated in the same way as above.

5.3. Solutions:

5.3.1.0.1 w/v % Bovin albumine standart solution:

4.3. Solusyonlar:

4.3.1. Katalizör karışımı: 9 g potasyum sülfat ve 1 g susuz bakar sülfat bir havanda iyice karıştırılır

4.3.2. % 30 w/v sodyum hidroksit: 30 g sodyum hidroksit 70 ml distile su içinde eritilir.

4.3.3. İndikatör karışımı: 0.3 g Brom kreosol yeşili ve 0.2 g metil kırmızısı her ikisi birden 400 ml % 90 w/v etil alkol içinde eritilir.

5. Protein miktar tayini:

5.1. Metod: Lowry spektrofotometrik metodu ile numunelerdeki protein kaynar su banyosunda trikloroasetik asit ile çöktürülerek protein miktarı hesaplanır. Bulunan değerler her bir ürün için belirtilen kriterler arasında olmalıdır.

5.2. Deneyin yapılışı: Numunedeki protein miktarı 20-120 µg/ml olacak şekilde dilüe edilir. Bovin albumin standartından 50, 100, 150 µg/ml standart dilusyonları hazırlanır. Numune ve standart dilusyonlarından 1 er ml santrifüj tüplerine alınır. Üzerlerine 1 ml % 10 TCA ilave edip kaynar su banyosunda 15 dakika kaynatılır. Soğutulup 1400 g de 20 dakika santrifüj edilir. Üstteki supernatant alınır. Tüpteki çökelek üzerine 2.5 ml % 5 TCA konup karıştırılarak 1400 g de tekrar santrifüj edilir. Süpem atılır. Tüpte kalan çökelek üzerine 2.5 ml alkali bakar sülfat solusyonu ilave edilerek 10 dakika iyice karıştırılarak çökeleğin çözünmesi sağlanır. Üzerine 2.5 ml distile su ve 0.5 ml fenol reagenti ilave edilerek tüpler iyice karıştırılıp 37 o C da 30 dakika tutulur. Aynı şekilde distile su ile hazırlanmış köre karşı spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda numune ve standartların absorbanları okunarak oluşan rengin konsantrasyonunu bulunur. Standart dilusyonların değerleri ile standart kalibrasyon eğrisi çizilir. Numunelerin okunan değerleri bu kalibrasyon eğrisinden bulup standartlarda oranları ile çarpılarak protein miktarları hesaplanır.

5.3. Solusyonlar:

5.3.1. % 0.1 Bovin albumin standardı

5.3.2. **Alkaline copper solution:** 0.8 g of sodium hydroxide is dissolved in water to a final volume of 100 ml in which 4 g of sodium bicarbonate is dissolved. (A solution)

Each 1 ml 2 w/v % copper sulfate solution and 4 w/v % sodium tartarate solution is mixed. (B solution)

49 ml of A solution and 1 ml B solution are mixed at each occasion of use.

5.3.3. **Phenol reagent:** Should be used with the optimal concentration.

6. Test for Moisture Content:

6.1. **Method:** The moisture content is determined by measuring the loss of weight of the test sample after drying under defined conditions. The acceptance is assessed according to the criterion given in each Monograph.

6.2. **Test Procedure:** A weighing bottle with a stopper provided with a capillary of 0.20-0.25 mm inside diameter is dried under the same conditions as the test conditions and accurately weighed at a relative humidity of no higher than 45%. A 30-50 mg portion of test sample is transferred into the weighed bottle and the bottle is accurately weighed to obtain the net weight of the test sample. The loaded bottle is dried over anhydrous P_2O_5 at a pressure of no higher than 5 mm Hg and at 58-62 °C for 3 hours.

Then placed in a desiccator containing anhydrous P_2O_5 or silica gel. Cooled to room temperature and weighed accurately. The moisture content is calculated by the following formula:

$$\text{Moisture content \%} = \frac{\text{The weight loss of the test sample by drying}}{\text{The weight of the test sample before drying}} \times 100$$

5.3.2. **Alkali bakır solusyonu:** 0.8 g sodyum hidroksit distile su içinde eritilir ve toplam hacim 100 ml ye distile su ile tamamlanır. Üzerine 4 g sodyum bikarbonat konup çözülür. (A solusyonu)

% 2 Bakır sülfat solusyonu ve % 4 sodyum tartarat solusyonunun her birinden 1 er ml alınıp karıştırılır. (B solusyonu)

49 ml A solusyonundan 1 ml B solusyonundan alınıp hemen kullanılır.

5.3.3. **Fenol reagent:** Stok fenol dilüe edilerek kullanılır.

6. Nem miktar tayini:

6.1. **Metod:** Numunedeki nem miktarı kurutmada kayıp yöntemiyle tartılarak hesaplanır. Bulunan değerler her bir ürün için belirtilen kriterler arasında olmalıdır

6.2. **Deneyin yapılışı:** 0.20-0.25 mm iç çapında olan kapiller balonlar deneyden önce kurutulup sabit tartıma getirilerek tartımları alınır. Tartımlar yapılırken ortamın nem miktarı % 45 ten fazla olmamalıdır. Daha sonra bu kapiller balonlara numunelerden 30-50 mg hassas bir şekilde tartılarak vakumlu kurutma firmında kurutulur. Kurutma firmında oluşturulan vakum 5 mm Hg den fazla olmamalı ve 58-62 °C da susuz P_2O_5 kullanılarak 3 saat kurutulur. Kurutmadan sonra son tartımları alınarak nem miktarı aşağıdaki formülle hesaplanır

$$\% \text{ Nem miktarı} = \frac{\text{Kurutmadan sonraki numunenin ağırlığı}}{\text{Kurutmadan önceki numunenin ağırlığı}} \times 100$$

7. Test for Phenol Content:

7.1. Method: The phenol content is determined by measuring the color developed by the reaction with the p-nitroanilin and nitrous acid test solution.

7.2. Test Procedure: A 1 ml portion of the test sample is taken accurately and accurately made to a final volume of 50 ml by adding water (here after referred to as test dilution). In the case of antitoxin, a 1 ml portion taken accurately is made up to about 10 ml by adding water and then accurately to 50 ml by adding 10 ml of a 5 w/v % trichloroacetic acid solution and water. The dilution is kept standing at room temperature for 30 minutes, and filtered. The filtrate serves as "test dilution".

A 1ml portion of the 0.5 w/v % phenol standard solution is also treated in the same way as the test sample ("standard dilution").

Each 1 ml portion of the test dilution and the standard dilution is taken accurately and added with about 30 ml of water. To each 1 ml a 50 w/v % sodium acetate solution and then 1 ml of p-nitroaniline-sodium nitrite test solution are added and shaken well. The total mixture is further added with 2 ml of the sodium carbonate test solution made up accurately to 50 ml by adding water and shaken well. The mixture is kept standing at room temperature for exactly 10 minutes; a portion of the mixture is measured for the absorbance at 480 nm. The phenol content in the test sample is determined from the absorbance values of the test dilution and the standard dilutions. Correction is made by measuring the absorbance of water treated in the same way as the test sample. Criterion for judgment: The phenol content in the test sample shall be between 0.45 and 0.55 w/v % unless elsewhere specified in each Monograph.

7.3. Solutions:

7.3.1. % 5 w/v TCAA 5 g of TCA is taken accurately and dissolved in water to a final volume of 100 ml with water.

7.3.2. % 0.5 Phenol standard: 0.5 g of phenol is taken accurately dissolved in water to a final volume of 100 ml with water.

7.3.3. % 50 Sodium acetate: 50 g of sodium acetate is taken and dissolved in water to a final volume 100 ml with water.

7.3.4. p-nitroanilin Solution: 1.50 g of p-nitroanilin is taken and dissolved in 40 ml HCl to a final volume 500 ml with water.

7.3.5. Sodium nitrite:

7. Fenol miktar tayini:

7.1. Metot: Fenol, p-nitroanilin ve nitrous asit ile renkli bir bileşik oluşturur.

Oluşan bu rengin konsantrasyonu ölçülerek fenol miktar bulunur.

7.2. Deneyin Yapılışı: Numuneden tam olarak 1 ml alınıp toplam hacim 50 ml oluncaya kadar distile su ile tamamlanır. (Bu referans test dilusyonudur.) Aynı şekilde antitoksin numuneleri de, 1 ml alınıp 10 ml distile su ve 10 ml % 5 w/v TCA ilave edilip toplam hacim 50 ml oluncaya kadar distile su ilave edilir. Yapılan dilusyonlar oda sıcaklığında 30 dakika bekletilir ve filtre edilir. Filtrat test dilusyonu olarak kullanılır. (Numune dilusyonu) % 0.5 fenol standardından 1 ml alınarak numune dilusyonunda olduğu gibi hazırlanır. (Standart dilusyonu) Standart ve numune dilusyonlarından 1 er ml tam olarak alınır ve üzerlerine 30 ml distile su ilave edilir. % 50 sodyum asetat solusyonundan 1 ml, p-nitroanilin-sodyum nitrat test solusyonundan 1 ml olmak üzere numune ve standartlara konup iyice karıştırılır. Üzerlerine 2 ml sodyum karbonat solusyonu ilave edip toplam hacim 50 ml oluncaya kadar distile su ile tamamlanır. Tüp-ler alt üst edilerek iyice karıştırılır. Tüpler oda sıcaklığında 10 dakika tutulur. Ve 480 nm de spektrofotometrede absorbansları okunur.

Standart dilusyonlarının absorbans değerlerinden bir standart eğrisi çizilerek numunelerdeki fenol miktarı hesaplanır.

Numune ve standartlara uygulanan işlemler distile su ile de yapılır.

Her bu kör olarak kullanılır.

Numunelerdeki fenol miktarları her bir ürün için belirtilen kriterler arasında olmalıdır. Hiç bir şey belirtilmemiş ise 0.45-0.55 w/v % arasında olmalıdır.

7.3. Solusyonlar:

7.3.1. % 5 w/v TCA 5 g TCA tam olarak tartılıp bir miktar distile suda eritilerek 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

7.3.2. % 0.5 Fenol standardı: 0.5 g fenol tam olarak tartılıp biraz distile suda eritilir. Hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

7.3.3. % 50 Sodyum asetat: 50 g sodyum asetat bir miktar distile suda eritilir. Hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

7.3.4. p-nitroanilin solusyonu: 1.50 g p-nitroanilin tartularak 40 ml HCl içinde eritilip toplam hacim 500 ml distile su ile tamamlanır.

7.3.5. Sodyum nitrit solusyonu:

8. Test for Thimerosal Content:

8.1. Method: The method for chemical determination of thimerosal content is based on the fact that thimerosal reacts with dithizone resulting in formation of a compound having a maximum specific absorbance at 480 nm.

8.2. Test Procedure: The 0.02 w/v % thimerosal standard solution is accurately diluted with water so as to make the standard dilutions of 0.005, 0.010 and 0.015 w/v % . A 0.5 ml portion of each of the test sample and the standard dilutions is taken accurately into 4.5 ml water. To each of them 5 ml of dilute sulfuric acid and 10 ml of the dithizon test solution are added accurately. The mixture is shaken for 5 minutes and allowed to stand still (ml of the resulting carbon tetrachloride layer is collected (if necessary centrifuged at over 1400 g for 10 minutes) shaken with 10 ml water and allowed to stand still. After the resulting water layer is collected is discarded, the rest is shaken with 10 ml of the ammonia test solution and allowed to stand still. The water layer discarded. This procedure of washing with the ammonia test solution is repeated three times; then 10 ml of water added and shaken. The mixture is allowed to stand still. The resulting water layer is discarded. and the remaining carbon tetrachloride layer is filtered through a filter paper. The absorbance of the filtrate is measured at 480 nm with a spectrophotometer. The values obtained with the standard dilutions are used for drawing a calibration curve. The thimerosal content of the test dilution is calculated by interpolating the value obtained with the test dilution to the calibration curve. The thimerosal content of the test sample is calculated from its content of the test dilution. Correction is made by the absorbance of water treated in the same way as above.

8.3. Solutions:

8.3.1. 0.02 w/v % Thimerosal standard solution: 0.02 g thimerosal is taken accurately and dissolved in water to a final volume of 100 ml accurately.

8.3.2. Dithizon test solution: A 2 g of dithizon is taken accurately and dissolved in carbon tetrachloride to a final volume of 100 ml accurately with carbon tetrachloride.

8.3.3. Dilute sulfuric acid:

8.3.4. Ammonia test solution:

8. Thimerosal miktar tayini:

8.1. Metod: Thimerosalun kimyasal olarak miktar tayini de dithizon ile reaksiyona girerek oluşturduğu spesifik rengin 480 nm de ki maksimum absorbansı ölçülerek thimerosal miktarı bulunur.

8.2. Deneyin yapılışı: 0.02 w/v thimerosal standart solusyonu hassas bir şekilde dilüe edilerek 0.005, 0.010, 0.015 % w/v standart dilusyonları hazırlanır. numune ve standart dilusyonlarının her birinden 0.5 er ml alınıp üzerlerine 4.5 ml distile su ilave edilir. Her birine 5 ml dilüe sülfürik asit ve 10 ml dithizon test solusyonu ilave edilerek tüpler 5 dakika iyice karıştırılır, ve fazları ayrılmaması beklenir. Sulu faz alınarak dışarı atılır. 10 ml distile su konup tüpler çalkalanır ve fazları ayrılmaması beklenir, sulu fazlar dışarı atılır. Karbon tetraklorid fazı 5 ml toplanıncaya kadar bu işleme devam edilir. (Eğer gerekirse 1400 g'de 10 dakika santrifuj edilir.) Son olarak toplanan kısım üzerine 10 ml amonyak test solusyonu konup karıştırılır, ve fazları ayrılmaması beklenir. Sulu faz dışarı atılır. Amonyak test solusyonu ile bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlanır. Sonra tekrar 10 ml distile su ilave edilip çalkalanır, ve fazları ayrılmaması beklenir. Sulu faz dışarı atılır. Sonunda toplanan karbon tetrakloridli fazlar filtre kağıdından süzülerek filtre edilir. Elde edilen filtrat'ın absorbansı 480 nm de spektrofotometrede ölçülür. Standart absorbans değerleri ile bir standart kalibrasyon eğrisi çizilir. Numunenin ölçülen absorbansı bu standart eğrisinden bulunarak numunedeki thimerosal miktarı hesaplanarak bulunur. Aynı şekilde distile su ile numune ve standartlara uygulanan işlemler aynen uygulanarak kör hazırlanır ve numune ve standartlar buna göre okunur.

8.3. Solusyonlar:

8.3.1. % w/v 0.02 Thimerosal standart solusyonu: 0.02 g thimerosal tam olarak tartılıp bir miktar distile suda eritilir ve hacim 100 ml ye tamamlanır.

8.3.2. Dithizon test solusyonu: 2 g dithizon tam olarak tartılıp karbon tetraklorid içinde eritilip hacim karbon tetrakloridle 100 ml ye tamamlanır.

8.3.3. Dilüe sülfürik asit:

8.3.4. Amonyak test solusyonu:

6 実験動物関連資料

JICA Biological Quality
Control Project

by Cengiz YALCIN

Report of Istanbul Trip

Aim of Trip: This trip financed by JICA in Turkey and it is about experimental animals;

Exchange knowledge and studies about experimental animals in DETAM-TUBITAK and private PAKIZE TERZI Laboratory in Istanbul.

DETAM

27.01.95

Observation: First stop was Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty Asst. Prof. Aydin BARLAS greeted the JICA group. There was an exchange of knowledge briefly and talked about common problems and the results.

Condition of Mice, Experimental animals which are used on studies has been categorized like, BALB/C, CU, WAT. They looked in good shape and seems healthy. They did not have any sign of sickness. But they were not very well-fed. They were little bit thinner than they spouse to be. The biggest reason for that is DETAM has some financial problems, beside they do not have enough space for the animals . Therefore they have limited number of animals.

Condition of Cages; %95 of cages are metal. So limited of them are made with Polichorbon. Metal cages keeps germs, observes cold quickly, do not send light well enough and difficult to clean them up. Therefore Metal cages does not recommend. Cages were rusty and peaces of food can go through easily between the holes.

Cage Base; They use chaff as a base under the cage. It is not very healthy for sure. There are light and humidity problems. They could not provide wood chips. Because, they need just a little bit so it is kind of difficult to provide limited amount. It shows us that beside financial problems, sometimes providing equipment and material can be a problem.

The conclusion is, before started to project it is very important to have proper equipments.

Room; It is big enough. Floor is marble. It is epoxilen in JICA which does not provide germs.

Food; It is one of the important matter in our studies. DETAM has the some problems about this matter. They provide food from YEM SAN. A.S. just like us. Food come apart very easy. Because food is not homogan enough. It become a problem when we clean-up the cage.

Ventilation; The biggest problem after the food matter. Ventilation is not in good shape. There is one air conditioner which is not enough.

Stands: Stands are not in good shape just like other equipments. Metal shelves get together side by side.

Water Crops: It was very primitive if we compare to water crops in JICA. It is made by glass but it is not strong enough to be autoclave. Equipments are old and they are using tab water. It shows us that they are facing financial problems.

Study: DETAM does not have any permanent system in their studies. They do not have any routine about changing the water, feeding the animals ext. They just do it as long as there is a need for.

Heating: DETAM does not have proper heating system. They have central heating system which is not enough and the room temperature is under normal room temperature. There is no air circulation. They are trying to keep room temperature permanent.

Disinfection: They do not use proper disinfection system.

Matting Method : They use Harem method which is 1 female to 4 male. Pregnant female separated from male and put in the reproduction cages. But this system is not very good if there is a need for a lot of mice.

Technic Facility: It is old and not enough for their needs. They hardly provide a computer

They do not have very good conditions for future young experts also not in the standards level. On the other hand, it seems like they are trying their best with their feasibility. JICA has so many opportunity compare to DETAM. Their studies related to producing experimental animals with SPF system. However, they are not exactly

ready for that study yet. It is unknown that when they will be able to solved their financial and other problems.

TÜBITAK

28.01.95

Tübitak looks better compare to DETAM. Their technology , generally project and stuffs has better shape. They provide their own needs.

Project Studies; KAYMERIK and TRASGENIK projects has mice prediction. They adopt human genes in mouse embryo. Those project supported by an company in U.S.A.

They are ahead of JICA project some ways. However, this project contain limited subjects.

Mice; They have black, white and grey mice. They are using Harem system for production. They use this system according to their mice need.

The Cages; They have three different size of cages and all of them made with policharbon and made in France. a. Birthing Cages
b. Production cages c. Matting Cages

Cage Base; They are extremely careful with bases. They use wood chips as a base. There is a sterility procedure with autoclave and than wood chips are using as a base. It helps to keep them clean.

Food; They are providing their food from Istanbul Yem San. A.S. They sterile the food with autoclave. This procedure helps the food be come harder so food does not come apart easily and cages does not get dirty as much. But it effects to nutrition value about %20-25 negatively. Colour of the food changes to black

Water Crops; They are glass and easy to autoclave but sometime food gets in it . They use tab water.

Ventilation; There is only one ventilator. But still somehow they provide pretty good ventilation.

Heating; They have central heating which looks like enough for this laboratory.

Room; IT is a big room looks like a long big hall. They do not have any particular system when they are arranging the cages. There are mice all of the ages so they arrange the cages by the mice ages.

Stands; They have metal stands same is DETAM.

Cleanness; IT seems like they are doing a good job on cleaning. They have a good system on cleaning-up. They change the cages, washing water corps and disinfect them twice a week. Also they change to water and the cage bases everyday.

Mating; Harem system.

Technical Equipments; TUBITAK has better shape than DETAM. But they are studying different subjects and also TUBITAK has U.S.A. support. TUBITAK and JICA has different subjects on their works too. So, it is not a good idea to compare them.

Before this trip to TUBITAK, it seems like it is a great big project but it was not better than JICA project.

JICA project going forward slowly but strong steps. Most important thing in JICA is basics. It has been understood very good and study as well. The knowledge build on basics.

Tubitak skip basics started from gene procedure. It effects the of the study for negative way. TUBITAK is working on SPF however their feasibility is not fitting the project.

Record of Breeding on New Mice Colony

S. N.	Date of check	Number of parent						Total	Number of suckling female		Date of				Number of supplied mice			Remarks	
		A	B	C	D	E	F		G	H	Birth betw.	Weaning	Supplied	Wean.	Male	Female	Total		
																			17/6
1	4/1/1995	17/6	16/5	17/6	17/7	16/6	16/6	99	-	36	63	26/12-3/1	19/1/1995	24/1/95	245	122	103	225	
2	11/1/1995	21/10	21/13	21/10	21/11	20/9	21/9	125	28	-	61	4-10/1	26/1/1995	-	31	-	-	31	
3	18/1/1995	22/10	22/16	22/16	22/15	22/15	22/15	132	-	23	45	11-17/1	2/2/1995	9/2/95	71	25	41	66	
4	25/1/1995	25/11	26/17	25/12	26/17	25/15	25/15	153	-	36	66	18-24/1	9/2/1995	17/2/95	70	32	29	61	
5	1/2/1995	30/16	30/16	29/13	30/22	30/15	30/18	179	41	-	79	25-31/1	15/2/1995	22/2/95	347	175	142	317	
6	8/2/1995	31/17	31/14	31/11	30/20	30/13	31/17	185	-	15	93	1-7/2	23/2/1995	6/3/95	141	53	65	118	
7	15/2/1995	30/17	30/18	30/12	30/19	30/13	30/19	180	-	42	82	8-14/2	1/3/1995	7/3/95	393	160	150	310	
8	22/2/1995	30/12	30/13	30/15	30/15	30/14	30/21	180	39	-	84	15-21/2	9/3/1995	14/3/95	353	192	110	242	
9	1/3/1995	30/16	30/20	30/19	30/21	30/15	30/20	180	-	30	69	22-28/2	16/3/1995	21/3/95	246	82	86	168	
10	8/3/1995	30/14	30/16	30/20	30/19	30/15	30/19	180	-	34	77	1-7/3	23/3/1995	28/3/95	294	110	120	230	
11	15/3/1995	30/14	30/16	30/13	30/20	30/12	30/16	180	34	-	82	8-14/3	30/3/1995	4/4/95	299	137	87	224	
12	22/3/1995	30/17	30/17	30/14	30/16	30/22	30/19	180	-	37	75	15-22/3	6/4/1995	11/4/95	305	110	118	228	
13	29/3/1995	30/20	30/19	30/16	30/18	30/20	30/19	180	-	43	66	22-28/3	134/1995	18/4/95	411	198	146	344	
14	5/4/1995	30/22	30/18	30/20	30/18	30/20	30/21	180	43	-	57	29/3-4/4	20/4/1995	25/4/95	391	226	153	379	
15	12/4/1995	30/22	30/22	30/20	30/18	30/23	30/23	180	-	38	56	5-11/4	27/4/1995	2/5/95	299	141	110	251	
16	19/4/1995	30/16	30/18	30/20	30/22	30/17	30/19	180	-	31	68	12-18/4	4/5/1995	-	244	-	-	-	
17	26/4/1995	30/18	30/16	30/15	30/20	30/17	30/20	180	37	-	74	19-25/4	11/5/1995	-	-	-	-	-	
18	3/5/1995	30/17	30/18	30/20	30/25	30/20	30/30	180	-	52	60	26/4-2/5	18/5/1995	-	-	-	-	-	
19	10/5/1995	/	/	/	/	/	/												
20	17/5/1995	/	/	/	/	/	/												

No. of Birth

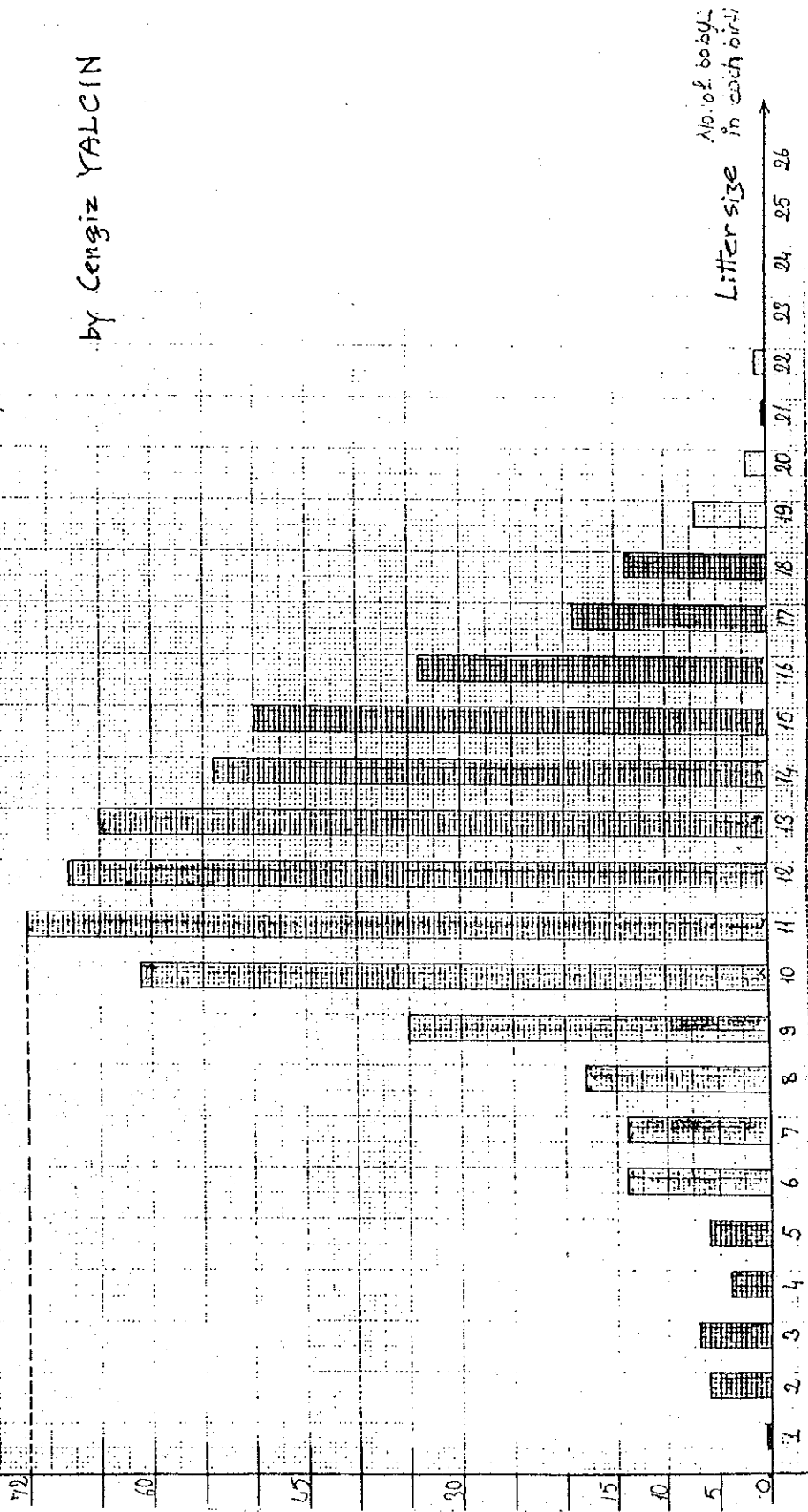
Distribution of Litter size

28/4/1995

Total no. of family = 180

Recorded no. of births = 551

by Cemgiz YALCIN

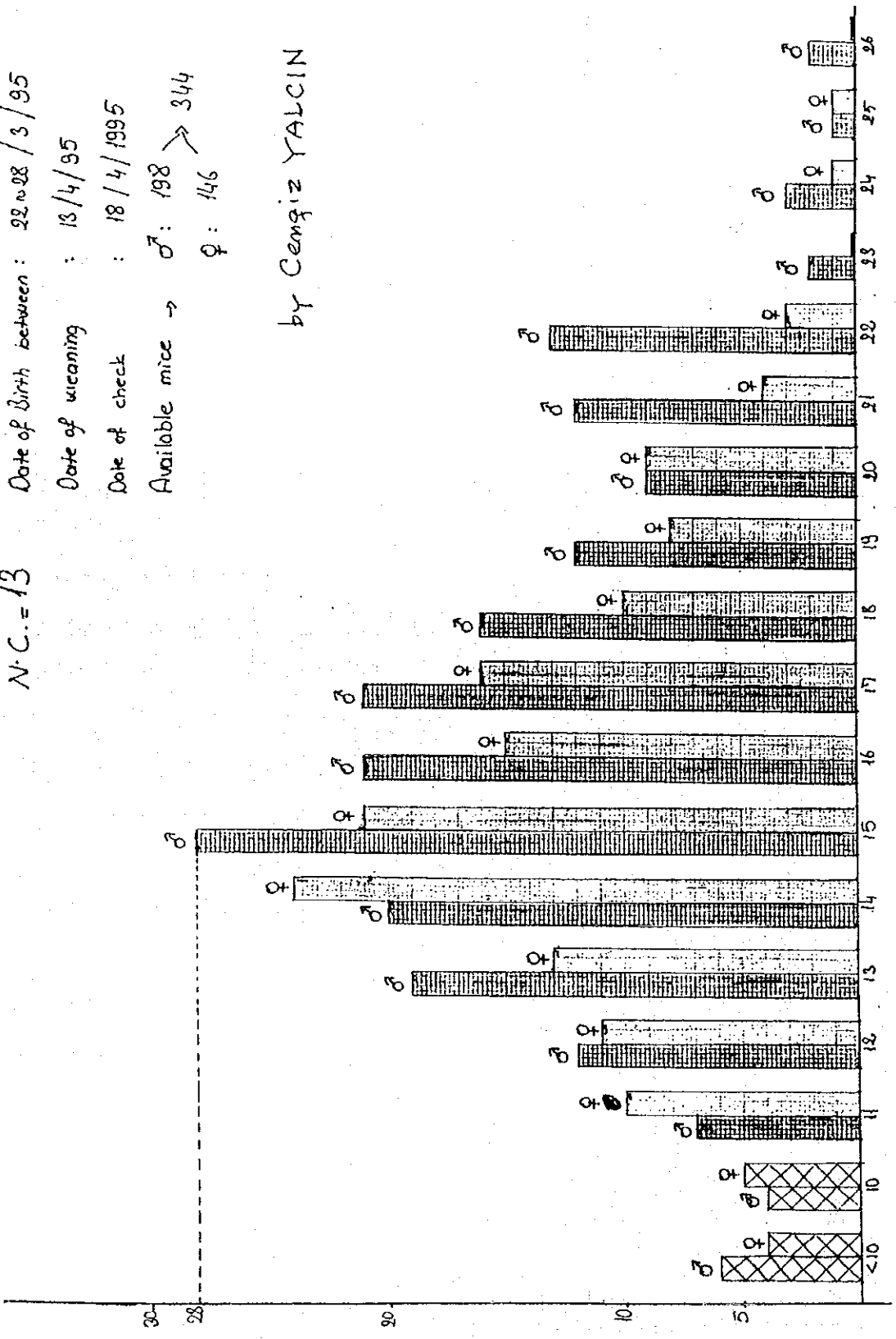


No. of baby
Litter size in each birth

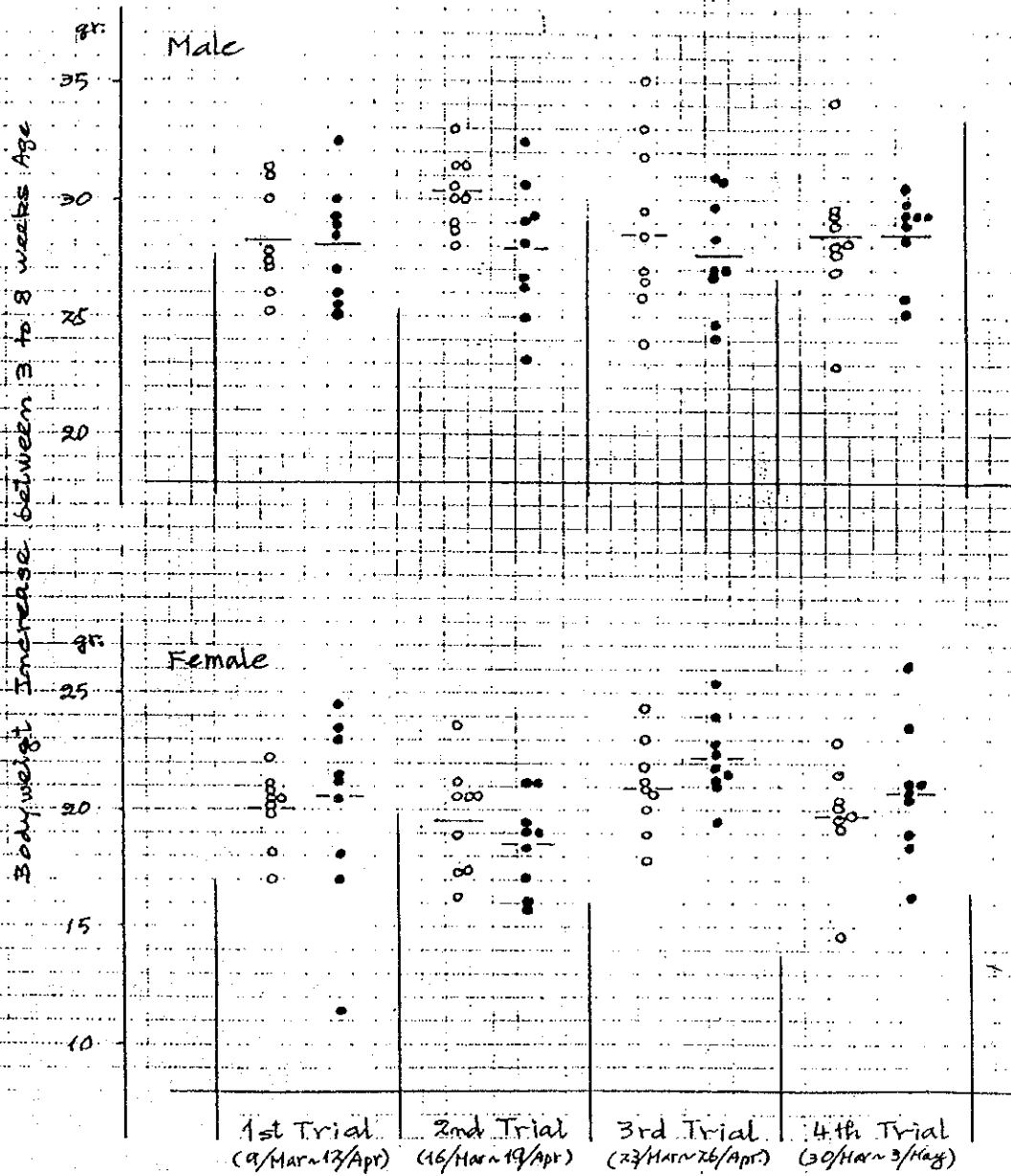
Distribution of Bodyweight (21~28 days)

N.C. = 13
 Date of Birth between : 22.08 / 3 / 95
 Date of weaning : 13 / 4 / 95
 Date of check : 18 / 4 / 1995
 Available mice → ♂ : 198 → 344
 ♀ : 146

by Cemgiz YALCIN



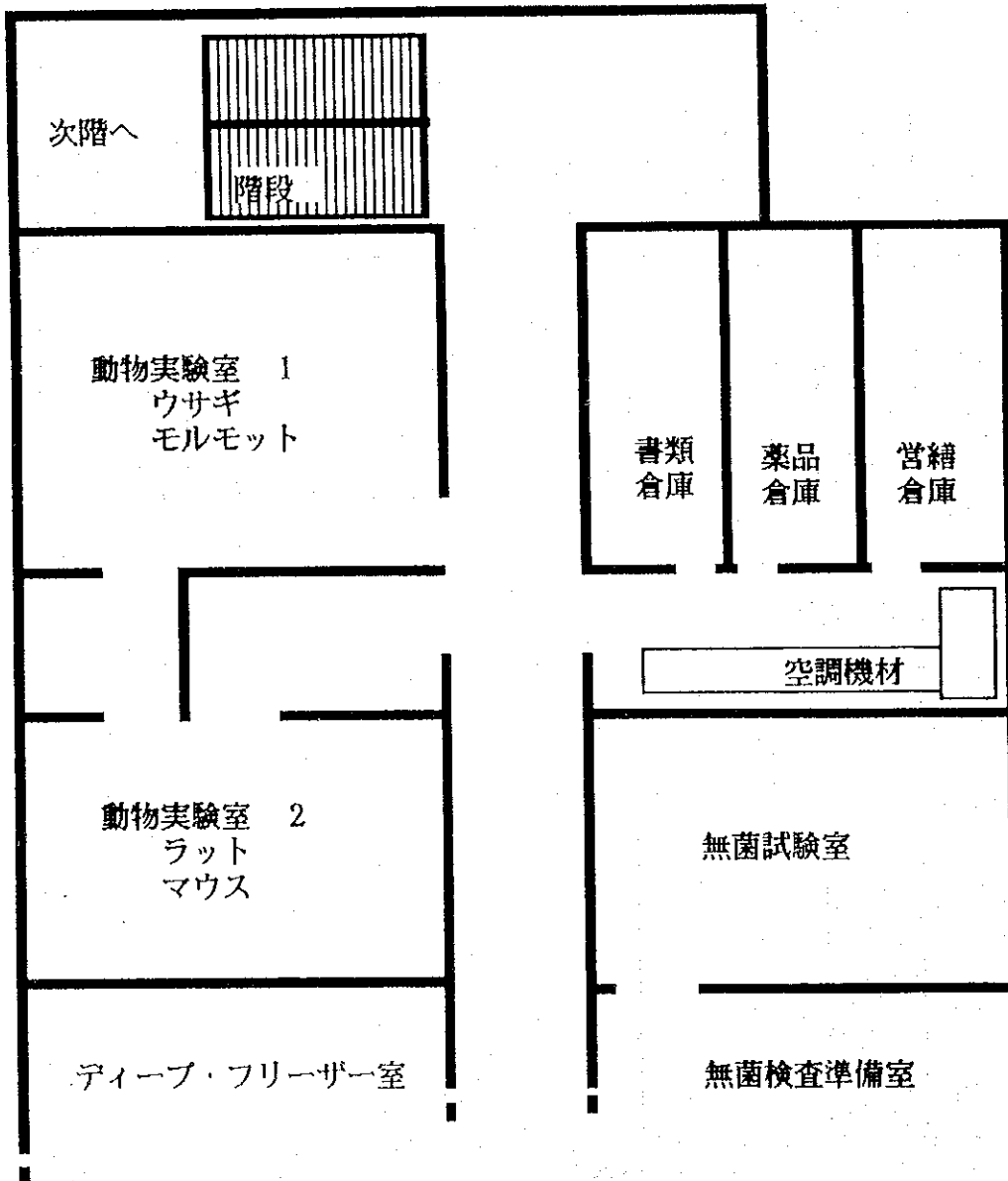
Comparison of
 Bodyweight Gain between Japanese and Turkish Pellet
 (by Cengiz YALCIN)



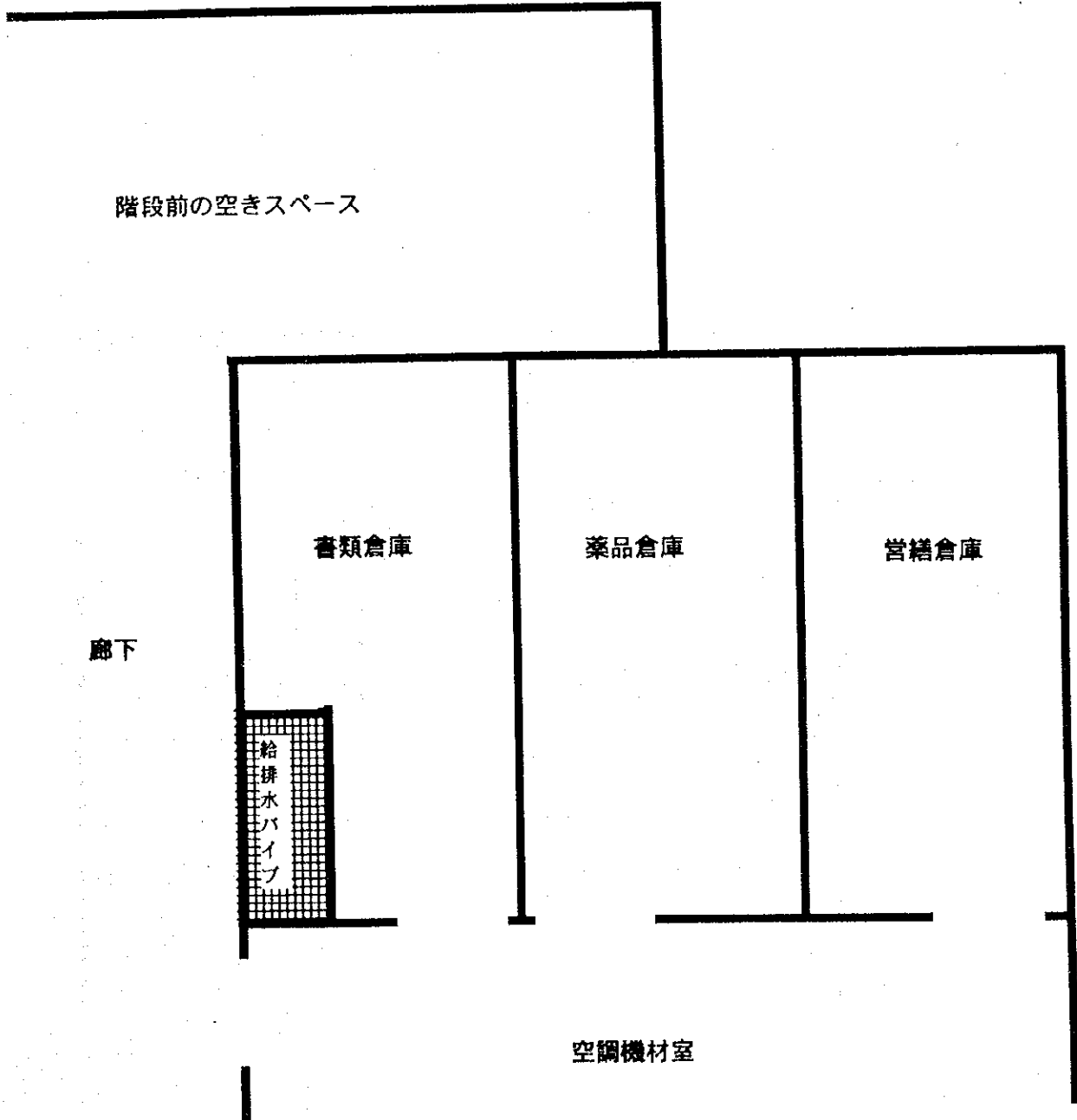
o : Japanese Pellet • : Turkish Pellet

7 実験動物繁殖室見取り図

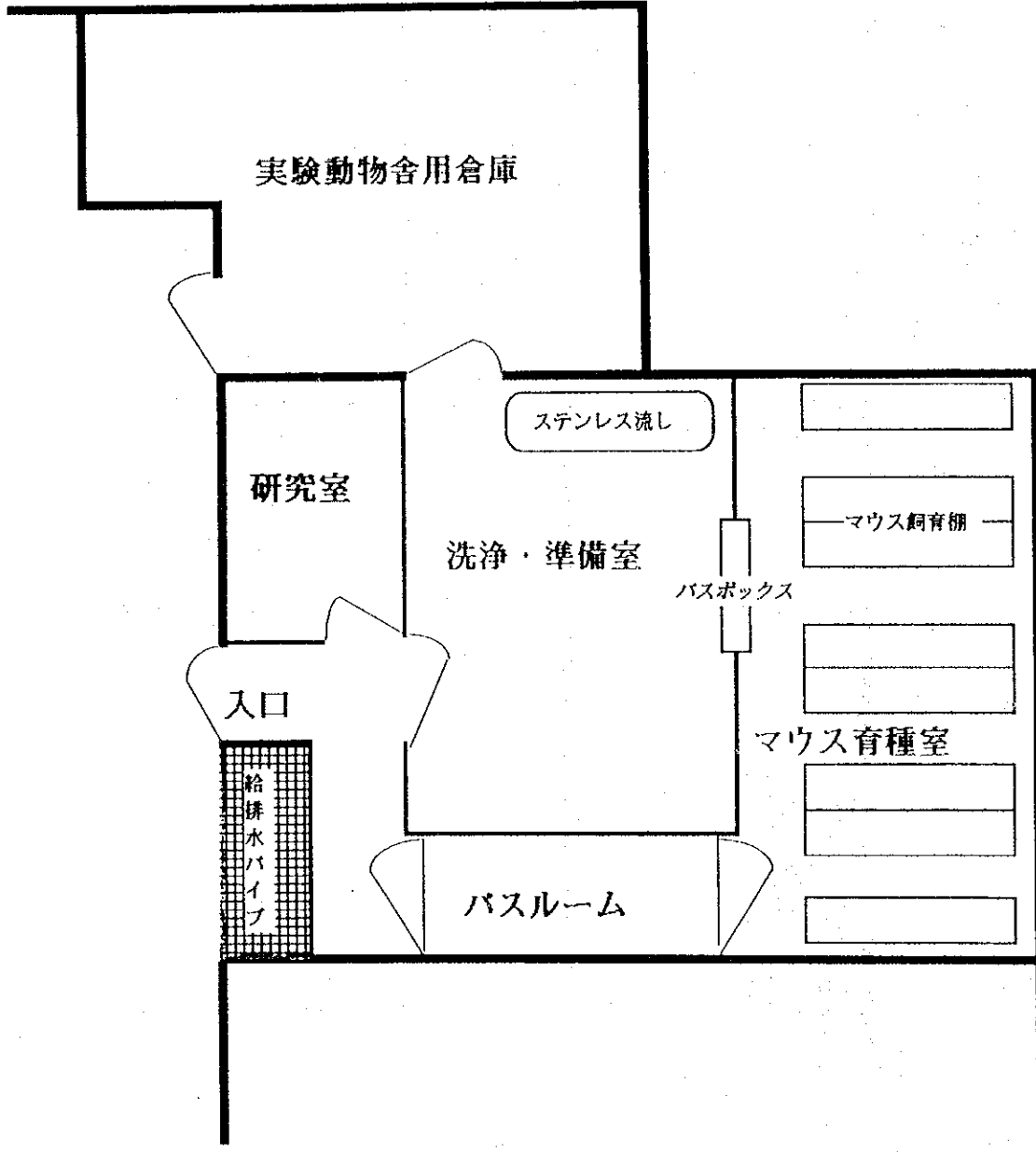
Refik Sydam Hygiene Center AB Block 4th floor 東端部分 改造前の平面図



改造工事前の図面



改造工事完成図



8 技術交換報告書

平成7年3月28日

技術交換実施報告書

トルコ生物製剤品質管理プロジェクト

1 技術交換実施プロジェクト名

トルコ生物製剤品質管理プロジェクト

2 技術交換対象プロジェクト・機関名

① 生ワクチン製造基盤技術プロジェクト

協力期間：1989年9月1日～1996年8月31日

インドネシア、バンドン市に所在。感染症研究で伝統のあるBio Farmaに、麻疹ワクチンおよびポリオワクチンの製造、ならびにその品質管理を日本の無償資金協力および技術協力によって行っている。

② 国立品質管理試験所

インドネシア、ジャカルタ市に所在。日本の無償資金協力、および技術協力によって、生物製剤を含めた医薬品の品質試験が行われている。

③ 国立衛生研究所

タイ、バンコクに隣接するノンタブリ県に所在。感染症の総合研究所として、日本の無償資金協力によって研究所が建設された。さらに日本の技術協力によって、各種感染症の研究が活発になされると同時に、生物製剤の試験的製造、ならびに製剤の国家検定が行われている。

④ 国立医薬品製造機構

タイ、バンコク市に所在。日本脳炎、破傷風、ジフテリア、百日咳などのワクチンの製造、ならびに維持工程の品質管理を行っている。

3 対象の技術分野および目的

ワクチンの品質管理試験技術の分野における、カウンターパートを取り込んだ技術交換を目的とする。あわせて、ワクチン製造の技術、品質保証の現状について意見交換する。トルコのワクチンの品質管理および製造技術、製造施設はASEAN諸国に比べてみてもかなりの遅れがみられる。日本の技術協力によって進められ、当該国のみでなく、近隣諸国にも貢献している2つのプロジェクト（タイについては国立予防衛生研究所で実施中の

エイズ予防対策プロジェクト)を訪問し、ヨーロッパに近いトルコで蓄積された品質管理の知識と技術と、アジアの技術体系、開発された成果について現状を比較調査し、当面する諸問題解決のための方策を探ることとした。また、各地の関係者と意見交換することによって、生物製剤の品質管理体制を行政の面で整備する参考とし、またプロジェクト運営上の諸方策に関し、長年技術協力を実施してきた両プロジェクトの蓄積された技術、ノウハウの有効活用を図る。

4 派遣チームの構成

(氏名)	(専門家分野・所属・職位)	(年齢) (性別)
ナズミ・オゼル	生化学教授 WIKAYIM衛生研究所長	49歳 男性
モアラ・オズカン	生物学者 生物製剤品質管理研究科長	56歳 女性
ミ・フィリ・アース	生物学者 生物製剤品質管理研究科副科長	38歳 女性
松山 繁夫	プロジェクトチームリーダー	63歳 男性
高延 壯男	ウイルス製剤の品質管理	58歳 男性
岩佐 三郎	細菌製剤の品質管理	67歳 男性

5 実施日程

日順	月/日(曜日)	内 容	*翌日
1	3月12日(日)	アンカラ→イスタンブール 移動 (TK137 16:30発 17:35着) イスタンブール→バンコク 移動 (TK572 19:35発 9:35着*)	
2	3月13日(月)	フライトの都合でバンコク滞在	
3	3月14日(火)	バンコク→ジャカルタ 移動 (GA912 13:30発 16:45着)	
4	3月15日(水)	JICAインドネシア事務所表敬 国立品質管理試験所にて視察・意見交換 ジャカルタ→バンドン 移動	
5	3月16日(木)	生ワクチン製造基盤技術およびBio Farmaにおいて技術交換	
6	3月17日(金)	〃	
7	3月18日(土)	バンドン→ジャカルタ 移動 ジャカルタ→シンガポール 移動 (TG414 17:20発 19:50着) シンガポール→バンコク 移動 (TG414 20:40発 21:50着)	
8	3月19日(日)	資料取りまとめ	
9	3月20日(月)	国立衛生研究所・国立医薬品製造研究所を視察 意見交換	
10	3月21日(火)	バンコク→イスタンブール 移動 (TK573 1:55発 7:20着) イスタンブール→アンカラ 移動 (TK110 8:45発 9:45着)	

6 主要面談者

J I C A Indonesia Office

Mr. Goichiro Okazaki Resident Representative

J I C A Project:

The Fundamental Technology Transfer Project for Production of
Live attenuated Measles and Polomyelitis Vaccine at Bio Farma

Dr. Hideo Ohata Project Team leader

Mr. Mitsuhiro Ando Project Coordinator

Mr. Hiroshi Yamamoto Expert

Bio Farma

Drs. Darodjatun MBA President Director

Drs. Thamrin P. Marketing Director

Drs. Maman Hidayat Production Director

Drs. Sampurno MBA Planning & Development Director

Dr. Benny Kaligis Bureau of Viral Vaccines Production

Dr. Lina H. Socaara Bureau of Quality Control and Development

Drs. Juliman Department of Supporting Facilities

F D C (Food and Drug Control)

Dr. Wisnu Katim Director General

7 総括報告

(1) インドネシア

① 国立品質管理試験所における意見交換

国立品質管理試験所はインドネシア保健省の管轄下にあり、医薬品類の許認可および品質管理に関する業務を主体としていることから熱心な意見交換が行われた。特に国立品質管理試験所は、過去に J I C A の無償資金協力および一般医薬品の品質管理を主体に技術協力を受けていることから、法的システムがかなり進んでいるようで、トルコ側にとって大いに参考になった。

② Bio Farma (生物製剤公社)

今回技術交換の相手側プロジェクト(インドネシア生ワクチン製造基盤技術)実施先で、2日間にわたり有効な意見交換を行うことができた。Bio Farmaは生物製剤の製造を行っており、トルコ側の参加者は国として生物製剤の品質管理を行う立場で、製造に関する知識が浅く、各専門家が国としての品質管理の目的、意義について説明

してもなかなか理解されなかったところもあった。Bio Farmaにおいては、プロジェクトのポリオ、麻疹の製造について、最新の設備と知識により大きな成果をあげ、さらにプロジェクト対象以外の品目にもプロジェクトの成果が応用されつつある。この現状を直接確認することができたトルコ側は、国としての品質管理は製造所の指導育成も業務の一端であり、したがって、国の検査機関として精度の高い検査能力を持つ必要性を理解できたと思われる。

(2) タイ

タイ国立予防衛生研究所(N I H)および医薬品製造公社(G P O)を訪問、見学することができた。タイN I HはJ I C Aの無償資金協力およびプロジェクト方式技術協力により設立され、1994年多大な成果のもとにプロジェクトは終了している。一方、G P Oは一部ワクチン製造も行って、J I C AタイN I Hプロジェクトのなかで日本脳炎ワクチン製造の技術移転が行われた経緯があるが、ワクチン製造に関しては十分な体制とはいえ、トルコの現状と似ている状況であった。タイN I Hは最新の設備と人材、および技術能力もかなり充実していることから、生物製剤の生産に対し、技術的にも指導育成的立場にあり、トルコ側には参考になったことと思われる。

(3) 結語

今回の技術交換でインドネシア、タイの生物製剤に関する品質管理の実情を知ることができた。同時にJ I C Aによる技術協力の実績もトルコ側に多少なりとも理解され、トルコ側が当プロジェクトをどう進め、どのように利用するかについて新たな認識を持ち、当プロジェクトの進展に寄与することを期待したい。技術交換、見学にあたり、大きな成果を得ることができたのは、J I C Aインドネシア事務所、生ワクチン製造基盤プロジェクトのチームリーダー大畑英雄氏、調整員安藤光廣氏、Bio Farma総裁のダルジャトン氏ほかスタッフ一同、タイ国エイズ予防対策プロジェクトの牧野千秋調整員、宮村紀久子専門家ほか専門家各位、食品衛生強化プロジェクトの中島衛平調整員らによるわれわれの受入準備から実施まで、多大のご苦勞によるところが大きく、ここに謝意を表明する。

8 個別報告

(1) 食品薬品総局・国立品質管理試験所において次の各項について意見交換が行われた。

- ① 試験所の概要説明。
- ② インドネシア生物製剤製造所 Bio Farmaと、国立品質管理研究所としての当試験所との関係 — 製造所のドキュメント(試験成績を含む)の確認と承認。

- ③ 蔵出し後のワクチン類について、国立品質管理研究所の責任として、時にコールドチェーンの良否を検討するための試料として末端の保健所から検体を収集し、その効力試験その他を行う。
- ④ 他国からの輸入製剤の承認に関する手続きの説明 — 製品の製造ドキュメント、製剤の野外試験成績の添付はもちろんのこと、輸出当該国のNational Control Authorityの承認の裏づけを必要とする。

以上の説明内容は、トルコ側にとって今まであいまいであったこの種の承認システムに新たな知識・経験を得たことで、深い感銘と学ぶところがあったと思われる。

(2) Bio Farma の見学と次の各項について意見交換が行われた。

- ① 製造所運営の詳細 — インドネシア唯一のこの製造所がいわゆる公社としての性格を持つこと、したがって国立とは違った自由度を持つこと〔職員俸給等。国の需要を賄う生産目標の確立、それに伴う生産計画の確立。製品はすべて国によって買い上げることができること。各部署の責任はもちろん、各機器類の運営・保持等の明確な責任体制の確立(責任が守られない場合、ペナルティーが課せられる)〕。大卒のスタッフは少数であるが、有能な技術者を計画的に集め各部署に配置して運営していること。
- ② 製造現場の見学 — 特に麻疹、ポリオワクチン製造施設の見学およびその運営の説明。その他タンク培養法によるトキソイド製造施設の見学、品質試験部署の見学、実験動物繁殖施設および動物実験室の見学。

以上に対して、トルコ側は特に公社としての運営に関心を示し、質疑応答が繰り返された。また、トルコとしてこの分野の短期的・長期的目標を明確にすることが大切であること、また人事・運営にはマネージメントの決定的重要性を改めて認識したと思われる。さらにJICAの技術協力の成果をあげるにはどうすべきであるかが認識されたと考えられる。

(3) タイNIHの見学およびエイズ予防対策プロジェクトにおいて、次の各項について意見交換が行われた。

- ① 品質管理研究部を含めたラボラトリーツアー、および実験動物室（動物感染実験室を含む）の見学
- ② エイズ予防対策プロジェクトの説明 — このプロジェクトは、1994年に終了した9年間に及ぶJICAのNIHプロジェクトの成果を土台として容易に発足できたこと。援助協力内容は、タイのエイズ研究・治療研究の強化、エイズ疫学（地方のエイズ検査技術の強化を含む）、エイズ教育の強化の3つを柱としている。

トルコ側にとって、このNIHは、その現代的な建物、近代的施設の充実、そし

てそこに働く活動的な人々の姿とともに、Bio Farma とはまた違った完備された研究所として強い印象を与えたようである。ここでは、主として品質管理部スタッフと試験の技術的な質疑応答がなされた。

(4) タイ医薬品製造機構のうち生物製剤製造施設の見学

Bio Farma に比べて生産規模は小さいが、やはり公社的性格を持つことにトルコ側が興味を示した。

9. 生物統計とコンピューターシステムの導入

(1) 当初計画

パーソナルコンピューターを用いて、次の4ステップの技術移転を意図した。(ステップ1) 統計学的品質管理(例: 連続量の平行線定量法、離散量のプロビット法による平行線定量法など)の指導、(ステップ2) 品質管理の現場にコンピューター利用の統計学手法の応用を図る(例: 実験動物の無作為化法、動物体重自動測定システムなど)、(ステップ3) 統計学的品質管理用のプログラム作成技術の移転、(ステップ4) 検定の受付から最終判定まで一括管理するシステムの構築。

(2) 技術移転経過

① 関係機材の供与

- Desk Top Personal Computer (FUJITSU) 2台
- Lap Top Personal Computer (FUJITSU) 5台
- Electric Animal Balance 2台

② 専門家の派遣

石田説而専門家が過去2回(1993年9月14日~12月10日、1994年10月22日~12月20日)派遣された。

③ カウンターパートの日本研修

1994年下期に最も期待されていたカウンターパートの一人Dr. Sami ERENの研修が予定されていたが、受入れ直前に本人の都合により退職した。現在までのところ、生物統計(統計に必要な数学的知識を含む)基礎プログラムを作成できる代替カウンターパートは配属されていない。

(3) 技術移転の進捗状況

2回の専門家派遣を通じ下記各項目の成果があった。

- ① 動物の無作為化のコンピューターシステムの作成
- ② 連続量の平行線定量法のプログラム作成
- ③ 離散量のプロビット法による平行線定量法のプログラム作成
- ④ 動物用の体重計とコンピューターを接続した自動計測システムの作成
- ⑤ BCG力価試験のWHO方式菌数計算のプログラム作成
- ⑥ 品質管理に必要な基礎プログラムの開発
- ⑦ ワクチンの受付、成績の記録に関するプログラム作成指導

(4) 今後の見込み

計画達成のために必要な適格カウンターパートの不在が致命的で、総合的判定でステ

ップ2にとどまっている。現状では協力期間中の事態改善は望めないことから、目標をステップ1、ステップ2に縮小し、可能であれば石田専門家を再派遣願い、必要プログラムの最終追加指導を実施したい。

10 実験器具の洗浄・滅菌技術およびシステムの改善

(1) 洗浄

長年の習慣から洗浄度に対する関心が薄く、現在の技術的水準対応のためには、洗浄度が不十分であることと、ガラス器具では試験精度に影響が大きいことから、調査検討の結果、改良・改革を開始した。

① 洗浄用水の確保

現地の水道水は高度の硬水であるため、水処理装置（ドイツSERAL社製）を設置して、水道水を軟水化→逆浸透処理→純水化処理することで、最大30ℓ/時の純水を得ることができるようになった。さらにこの純水は、パイロゼン・フリーの高度精製水、および蒸留水製造用原水としても使用している。これらの水質は表1のとおりである。

表1 水道水および処理水の水質

処理工程 検査項目	洗 浄 室				細菌試験室	血清試験室
	水道水	軟水化	逆浸透	純水	超純水	蒸留水
硬度(°Fr)	12	1	0	0	0	0
NaCl(ng/ℓ)	25	11	7	3.5	—	—
Cl ⁻ (ppm)	>0.5	<0.3	0	0	0	0
電導率(μs/cm)	253	250	23.5	1.2	1.6	3.0

*測定：1995年3月

*超純水、蒸留水は洗浄室軟水化処理水を原水としている。

② ガラス器具の洗浄

協力以前、器具の一部はクローム硫酸処理されていたが、大半は旧来の家庭用洗剤を使用してブラシ洗浄が行われていた。この方法は効率が悪く洗浄度不均一の原因にもなりかねないことから、洗浄方法の検討を行った。

現地調達可能な市販苛性系アルカリ性洗剤の水溶液槽に一夜浸漬後、水洗することで、効率的に洗浄が可能であることが確認できたので、担当者に対して、「目で見てきれい」から「化学的にきれい」の指導を行うとともに、pH試験紙によりpHの変化を目で確認する方法を用いた。その結果、ほぼ試験に支障なく使用可能な状態になったが、洗浄担当者は化学的知識もなく、単なる労働提供者で、水洗が大事であることを説明したが理解が得られず、目を離すと洗浄不足の状態となる。この現実を解決

するため、研究科全員に理解を求め、協力して担当者の教育にあたるとともに、各工程を完全に区分できるハードの改善を計画しているが、習慣と文化の差異を痛感、根気よく続ける必要がある。

a. 洗浄度均一化および洗浄方法の簡素化

試験管なども1本単位で洗浄水洗を行っていたが、ガラス器具それぞれに専用ステンレス製網かごを試作し、このかごに詰めた状態で洗浄処理→水洗→乾燥を一貫して行えるよう改善した。これにより大きな単位での処理が可能になり作業は簡素化され、洗浄度の均一化も図れると考えられる。

b. ガラス器具の規格統一化

ガラス器具は各実験者が、それぞれの専用品として保持管理していたため、器具の品質に差が大きく、さらに種類も多く、洗浄担当者の負担となっていた。したがって、大量に使用される試験管について、品質も含め、サイズの規格統一化を図り、共同使用することにして、在庫分も含め十分な数量を準備した(表2)。

表2 試験管の規格および保有数量

規 格	ガラス厚 (mm)	外径 × 長さ (mm) (mm)	保有数(本)
無菌試験用大	3	24~25 × 200	700
無菌試験用中	3	22~23 × 150	3,000
小川培地用	1.5~2.0	18 × 180	2,000
中 試	1.5~2.0	16.5 × 165	1,846
短 試	1.5~2.0	16~17 × 105	2,000
小 試 A	1.5~2.0	13 × 75	2,000
小 試 B	1.5~2.0	12 × 100	1,000

*ガラス質は硬質(パイレックス)

(2) 乾燥

JICA供与の乾燥機のうち4台を洗浄室に設置した。十分に機能を発揮していて、乾燥については現在問題はない。

(3) 滅菌

① オートクレーブ

トルコ側が準備した大形1台にJICA供与の中形3台を洗浄室に設置した。さらに各試験室に小形1台ずつを設置したので必要量の資材を完全に滅菌することが可能

となった。ただし、JICA 供与の中形 3 台が延べ 4 回故障した。この原因は、日常の管理および使用方法の過ちによるもので、さらに指導を強化継続する。

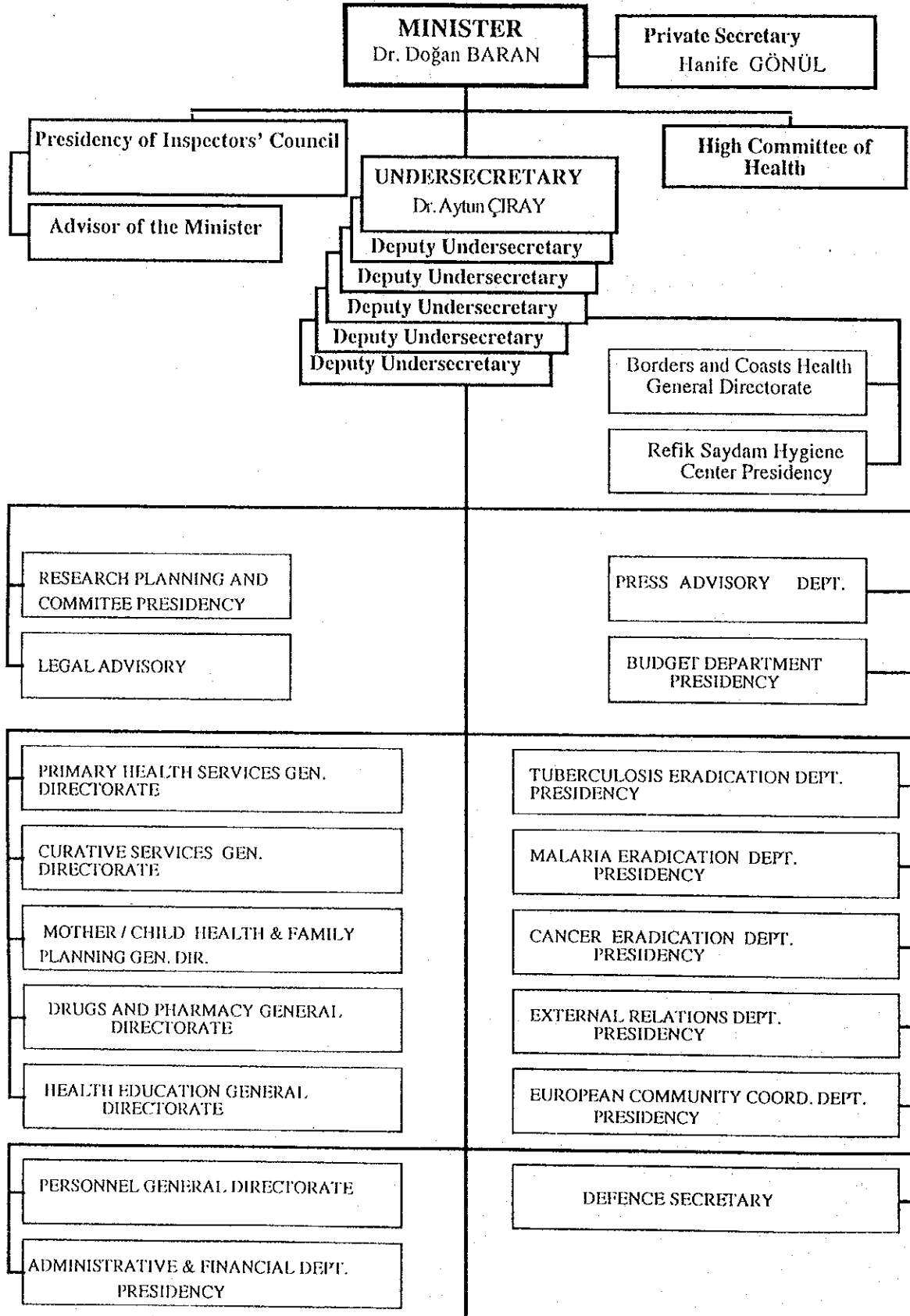
② 乾熱滅菌機

JICA 供与の 1 台を使用している。機械は順調に稼働していて現在問題はない。

③ エチレンオキシド (EO) ガス滅菌機

加熱不適の資材滅菌機を JICA 供与で導入、綿繊維製、プラスチック製等の滅菌を可能にした。なお、本機は当プロジェクト内のみならずレフィクサイダム衛生研究所全部門で共同使用している。現在 2 週間に 1 回定期的に稼働使用しているが、将来さらに広く使用されることが予想される。稼働状況および EO ガス入手等現在問題はない。

ORGANIZATION CHART OF MINISTRY OF HEALTH



PROVINCE ORGANIZATION

RESPONSIBILITY AREAS OF DEPUTY UNDERSECRETARIES

DEPUTY UNDERSECRETARY
Dr. Ahmet MİSKİ

PRIMARY HEALTH SERVICES GENERAL DIRECTORATE
MOTHER / CHILD HEALTH & FAMILY PLANNING GEN. DIR.
HEALTH EDUCATION GENERAL . DIR.

DEPUTY UNDERSECRETARY
M. Sıddık ENSARİ

PUBLIC RELATIONS DEPT. PRESIDENCY
EXTERNAL RELATIONS DEPT. PRESIDENCY
BORDERS AND COASTS GENERAL DIRECTORATE
EUROPEAN COMMUNITY COORD. DEPT. PRESIDENCY

DEPUTY UNDERSECRETARY
Dr. Senem KÖYLÜOĞLU

TUBERCULOSIS ERADICATION DEPT. PRESIDENCY
CANCER ERADICATION DEPT. PRESIDENCY
MALARIA ERADICATION DEPT. PRESIDENCY

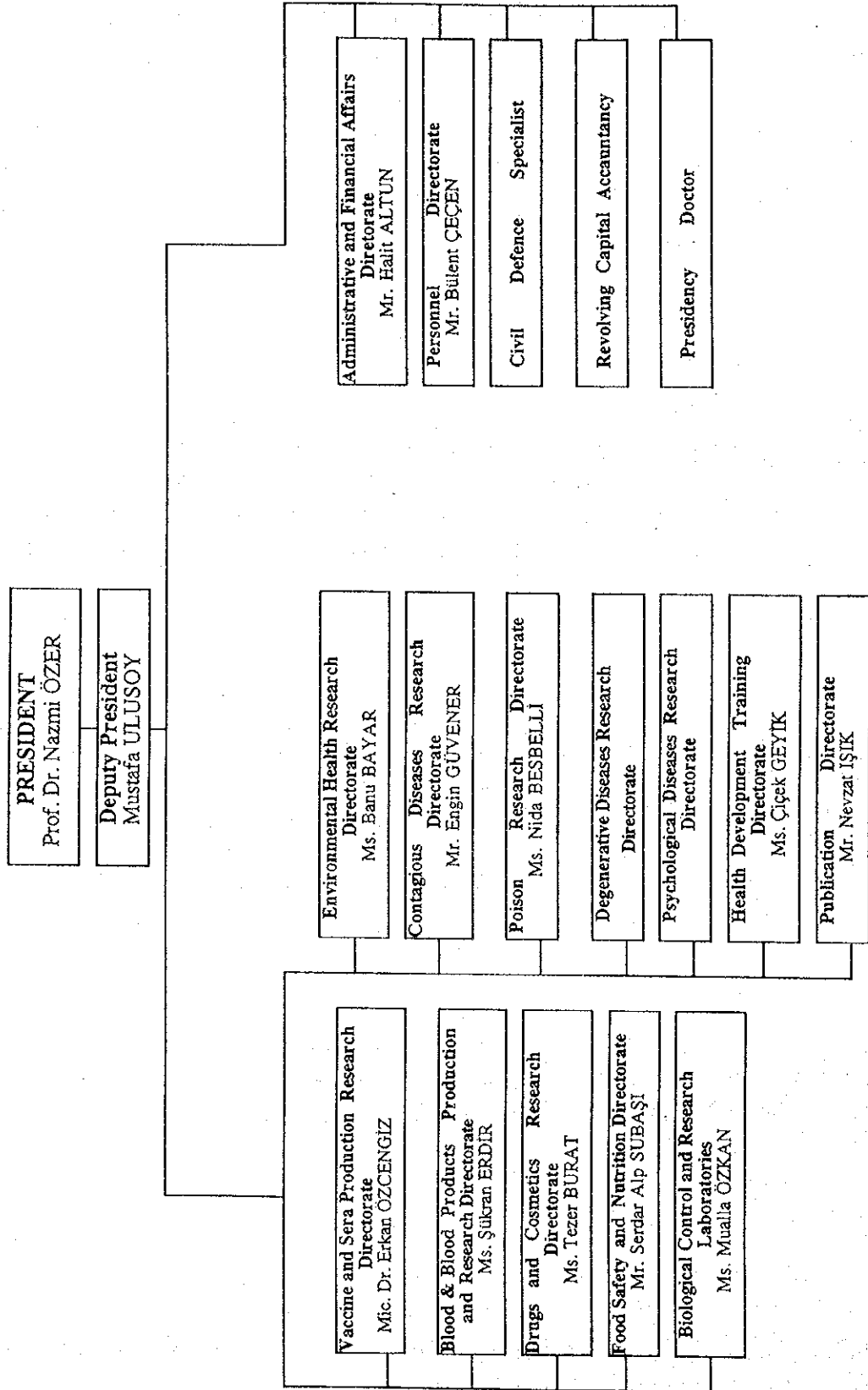
DEPUTY UNDERSECRETARY
Ömer YILDIZ

REFİK SAYDAM HYGIENE CENTER PRESIDENCY
DRUGS AND PHARMACY GENERAL DIRECTORATE
PERSONNEL GENERAL DIRECTORATE

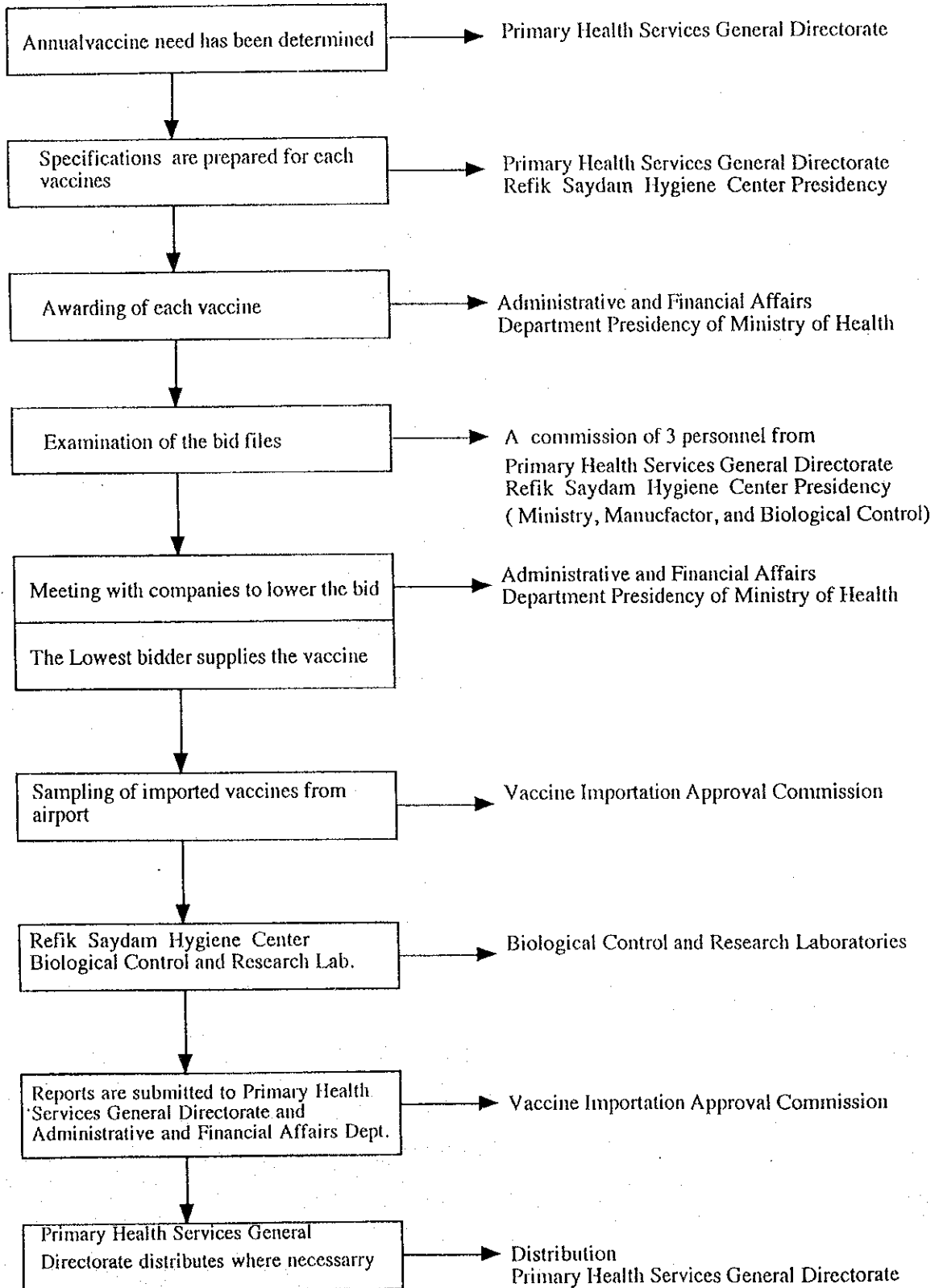
DEPUTY UNDERSECRETARY
Metin ULUSOY

PRESS ADVISORY DEPARTMENT
ADMINISTRATIVE AND FINANCIAL DEPARTMENT DIR.
RESEARCH AND PLANNING DEPT. DIR.

ORGANIZATION CHART OF REFIK SAYDAM HYGIENE CENTER PRESIDENCY



FLOW CHART OF IMPORTED VACCINES



VACCINE, SERA , BIOLOGICALS AND LABORATORY ANIMALS
 PRODUCED AT REFIK SAYDAM HYGIENE CENTER PRESIDENCY
 - 1994 -

<u>Vaccines</u>	<u>Amount</u>
DPT Vaccine	173,600. Doze
Tetanus Vaccine	1,810,000. Doze
Typhoid Vaccine	48,400. Doze
BCG Vaccine	3,022,500. Doze
Rabies Vaccine	796,050. Doze

Sera

Scorpion Serum	32,930. Ampule
Rabies Serum	1,625. Bottle
Anhrax Serum	590. Bottle
Gangren Serum	4,291. Bottle
Tetanus Serum (1500)	26,005. Ampule
Tetanus Serum (3000)	5,550. Ampule
Diphtheria Serum (3000)	1,900. Ampule
Diphtheria Serum (10,000)	900. Bottle

Laboratory Animals

Rabbit	1,370. Pcs.
Guinea Pig	9,880. Pcs.
Mouse	12,650. Pcs.
Rat	980. Pcs.

14 トルコのワクチン必要量

**ANNUAL VACCINE NECESSITY
1994**

Tetanus	6 Million Doze
DT	2 Million Doze
DPT	8 Million Doze
BCG	8 Million Doze
PPD Tuberculin	4.5 Million Doze
Polio	10 Million Doze
Measles	2 Million Doze
Rabies	1 Million Doze
or	
Rabies HDCV	
or	
PVCR	400 Thousand Doze

INFORMATION ABOUT VACCINATION

Coverage of Immunization Rate According UNICEF.

	<u>TURKEY</u>		<u>INDONESIA</u>	<u>THAILAND</u>	<u>JAPAN</u>
	1993	1994	1993	1993	1993
DPT	%79	%81	%89	%92	%87
POLIO	%80	%80	%93	%92	%90
BCG	%63	%70	%94	%97	%85
MEASLES	%74	%77	%90	%86	%66

Those numbers are belongs to 0-11 months infants according to the data from Turkish Governments yearly infant birth population . The regulation of immunisation apply to infant as follows;

<u>Age of Baby</u>	<u>Name of Vaccines</u>	<u>Dose of Vaccines</u>
0 (Newborn)	BCG	0.05ml
2 months	DPT and Polio	0.5ml & 0.2ml
3 months	DPT and Polio	0.5ml & 0.2ml
4 months	DPT and Polio	0.5ml & 0.2ml
9 months	Measles	0.5ml

16 生物製剤品質管理研究科における検定ロット数 (1994年)

NUMBER OF BIOLOGICALS ACCEPTED BY B.C.R.L. (1994)

Imported

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Total	Mean per M
Bact.	2	-	2	1	1	2	1	-	2	1	20	1	33	2.8
Viral	8	4	10	3	2	2	6	5	5	6	8	5	64	5.3
Blood	29	9	10	24	6	9	22	19	12	14	2	20	176	14.7
Antisera	2	-	2	-	-	1	1	-	-	2	2	-	10	0.8
Sub-total	41	13	24	28	9	14	30	24	19	23	32	26	283	23.6

Domestic

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Total	Mean per M
Bact.	6	12	15	25	9	8	4	8	1	19	10	10	121	10.1
Viral	3	3	1	-	3	4	4	4	1	3	1	1	28	2.3
Blood	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antisera	1	2	1	1	-	-	-	-	7	-	-	-	13	1.1
Sub-total	10	17	17	26	12	12	8	12	9	22	11	11	162	13.5

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Total	Mean per M
Total	51	30	41	54	21	36	38	36	28	45	43	33	456	3.8
No. of Mice Needed	255	150	205	270	105	180	190	180	140	225	215	165	2280	2280

190/month

BIOLOGICAL CONTROLS IN 1994

<u>VACCINES</u>	Number of lots
1-Bacterial and Toxoids Vaccine (domestic product).....	:282
2-Bacterial and Toxoids Vaccine (Imported).....	: 44
3-Viral Vaccines (domestic product).....	: 87
4-Viral Vaccines(Imported).....	: 54

5-Diluted Sauton(Imported).....	: 32
6-Allergen (Imported).....	: 20

IMMUN SERA

1-Immun Sera (domestic product).....	: 15
2-Immun Sera (Imported).....	: 8

BLOOD PRODUCT

1-Blood Product(domestic).....	: 1
2-Blood Product(Imported).....	: 174

CONTROLS

	NUMBER
Sterility.....	:979
Safety.....	:352
Toxicity.....	: 3
Potency.....	: 81
Microscopic Controls.....	: 18
pH Determination.....	: 112
Free Formaldehyde content.....	: 47
Residual moisture content.....	: 49
Protein content.....	: 46
Aluminium.....	: 20
MgCl ₂	: 14
Phenol Red.....	: 17
Phenol Content.....	: 22
Thiomersal Content.....	: 12
NaCl.....	: 1
MLD Estimation.....	: 1
Identite Test.....	: 91
Prospectus check in.....	: 66

EXPERIMENTAL ANIMALS USED

	NUMBER
Mice.....	: 2464
Guinea pigs.....	: 1511
Rabbits.....	: 4
Rats.....	: 89

18 トルコ側保健省予算

MINISTRY OF HEALTH BUDGET 1994

DEPARTMENTS	BUDGET	%	PERSONNEL	OTHERS
Treatment Services General Directorate	15,404,120	50.57	12,327,508	3,076,612
Basic Health Services General Directorate	9,432,950	30.96	7,987,265	1,445,685
Malaria Fight Dept. Presidency	1,263,272	4.15	1,194,550	68,722
Health Education General Directorate	1,162,906	3.82	908,034	254,872
Environmental Health General Directorate	720,073	2.36	568,726	151,347
Administrative & Financial Dept. Presidency	708,176	2.32	285,417	422,759
Tuberculosis Fight Dept. Presidency	592,254	1.94	442,020	150,234
World Bank Support Project Services	284,000	0.93	0	284,000
Health Project Investments	284,000	0.93	0	284,000
Refik Saydam Hygiene Center Presidency*	278,738	0.91	222,078	56,660
Transfers	141,921	0.47	0	141,921
MINISTRY OF HEALTH BUDGET 1994	68,675	0.23	5,200	63,475
Personnel General Directorate	54,425	0.18	53,430	995
Control Services	18,773	0.06	16,783	1,990
Drug & Pharmacy Gen. Directorate	14,228	0.05	12,948	1,280
Research Planning Committee Directorate	12,228	0.04	11,881	347
Cancer Fight Dept. Presidency	5,756	0.02	2,331	3,425
High Administration	5,634	0.02	2,860	2,774
External Relations Department	3,831	0.01	2,600	1,231
Law Advisor	2,607	0.01	2,470	137
E.C. Coord. Dept. Presidency	2,223	0.01	1,554	669
Defence Secretary	1,753	0.01	1,690	63
Press & Public Relations	769	0	650	119
Public Association and Foundation	15	0	5	10
GRAND TOTAL	30,463,327	100	24,050,000	6,413,327

(*) Refik Saydam Hygien Center Presidency budget

Ministry budget	278,738	222,078
Own income	68,675	
Total budget	347,413	
Personnel	236,413	
Investment/Study Projects/construction/Vehicles	36,000	
Machinery and Equipment	32,000	
Lab. substances/chemicals/gardening/exp. kits	43,000	

19 保健省の歴代大臣リスト

LIST OF HEALTH MINISTERS SINCE 1920

	NAME	DATES BETWEEN	
1	Dr. Adnan ADIVAR	03. 05. 1920	10. 03. 1921
2	Dr. Refik SAYDAM	10. 03. 1921	20. 12. 1921
3	Dr. Rıza NUR	24. 12. 1921	27. 10. 1923
4	Dr. Refik SAYDAM	30. 10. 1923	21. 11. 1924
5	Dr. Mazhar GERMEN	22. 11. 1924	03. 03. 1925
6	Dr. Refik SAYDAM	04. 03. 1925	25. 10. 1937
7	Dr. Hulusi ALTAŞ	25. 10. 1937	18. 01. 1945
8	Dr. Sadi KONUK	18. 01. 1945	05. 08. 1946
9	Dr. Behçet UZ	07. 08. 1946	10. 06. 1948
10	Dr. Kemal BEYAZIT	10. 06. 1948	22. 05. 1950
11	Prof. Dr. N. Neşat BELGER	22. 05. 1950	19. 09. 1950
12	Dr. E. Hayri ÜSTÜNDAĞ	20. 09. 1950	17. 05. 1954
13	Dr. Behçet UZ	18. 05. 1954	09. 12. 1955
14	Dr. Nafiz KÖREZ	09. 12. 1955	25. 11. 1957
15	Dr. Lütfi KIRDAR	26. 11. 1957	27. 05. 1960
16	Prof. Dr. Nusret KARASU	27. 05. 1960	25. 08. 1960
17	Prof. Dr. Ragıp ÜNER	05. 09. 1960	20. 11. 1961
18	Dr. Suat SEREN	20. 11. 1961	26. 06. 1962
19	Dr. Yusuf AZİZOĞLU	26. 06. 1962	26. 10. 1963
20	Prof. Dr. Kerim GÖKAY	05. 11. 1963	26. 12. 1963
21	Dr. Kemal DEMİR	26. 12. 1963	20. 02. 1965
22	Dr. Faruk SÜKAN	22. 02. 1965	27. 10. 1965
23	Dr. Edip SOMUNCUOĞLU	27. 10. 1965	01. 04. 1967
24	Dr. Vedat Ali ÖZKAN	01. 04. 1967	12. 03. 1971
25	Prof. Dr. Türkan AKYOL	26. 03. 1971	13. 12. 1971
26	Dr. Cevdet AYKAN	13. 12. 1971	23. 05. 1972
27	Dr. Kemal DEMİR	23. 05. 1972	16. 04. 1973
28	Dr. Vefa TANIR	16. 04. 1973	26. 01. 1974
29	Selahattin CİZRELİOĞLU	26. 01. 1974	18. 11. 1974
30	Dr. Kemal DEMİR	18. 11. 1974	18. 04. 1977
31	Dr. Vefa TANIR	18. 04. 1977	21. 06. 1977
32	Prof. Dr. Celal ERTUĞ	21. 06. 1977	21. 07. 1977
33	Cengiz GÖKÇEK	21. 07. 1977	05. 01. 1978
34	Dr. Mete TAN	05. 01. 1978	12. 11. 1979
35	Dr. Münif İSLAMOĞLU	12. 11. 1979	11. 09. 1980
36	Prof. Dr. Necmi AYANOĞLU	22. 09. 1980	23. 12. 1982
37	Prof. Dr. Kaya KILIÇTURGAY	23. 12. 1982	13. 12. 1983
38	Mehmet AYDIN	13. 12. 1983	17. 10. 1986
39	Asst. Prof. Mustafa KALEMLİ	17. 10. 1986	21. 12. 1987
40	Bülent AKARCALI	21. 12. 1987	26. 06. 1988
41	Cemil ÇİÇEK	26. 06. 1988	06. 07. 1988
42	Nihat KİTAPÇI	06. 07. 1988	31. 03. 1989
43	Halil ŞİVGİN	31. 03. 1989	23. 06. 1991
44	Dr. Yaşar ERYILMAZ	23. 06. 1991	20. 11. 1991
45	Dr. Yıldırım AKTUNA	20. 11. 1991	25. 06. 1993
46	Rifat SERDAROĞLU	25. 06. 1993	28. 11. 1993
47	Kazım DİNÇ	28. 11. 1993	15. 05. 1994
48	Dr. Doğan BARAN	15. 05. 1994	To date

20 レフィクサイダム衛生研究所の歴代所長リスト
LIST OF PRESIDENCY APPOINTMENTS TO REFIK SAYDAM HYGIENE CENTER
PRESIDENCY SINCE 1932

	<u>NAME</u>	<u>DATES BETWEEN</u>	
1	Prof. Dr. Mustafa SAYGUN	1932	1935
2	Prof. Dr. E. GOTSCHTICH	1935	1940
3	Dr. Vefik Vassaf AKAN	1940	1944
4	Dr. Şevket Kamil TOKGÖZ	1944	1945
5	Dr. Mahmut Sabit AKALIN	1945	1947
6	Dr. Niyazi ERZİN	1947	1961
7	Dr. Tahsin S. BERKİN	1961	1966
8	Dr. İrfan TUNA	September 1966	January 1971
9	Dr. Muzaffer AKYOL	February 1971	May 1971
10	Dr. Orhan SİPAHİ	October 1971	September 1972
11	Dr. Sami BAĞLUM	October 1972	January 1974
12	Dr. Elhan ÖZLÜARDA	26 August 1974	23 September 1974
13	Dr. Akile KAYAGİL	23 September 1974	11 November 1974
14	Doç. Dr. Azmi ARI	December 1974	04 September 1977
15	Bact. Dr. Necmettin ALKIŞ	11 September 1977	19 April 1982
16	Prof. Dr. Sedat ARITÜRK	19 April 1982	21 October 1983
17	Prof. Dr. Kazım KURTAR	15 November 1983	13 July 1984
18	Dr. Eşref AYGÜN	18 July 1984	14 February 1985
19	Dr. Sevinç HEPER	13 February 1985	03 June 1985
20	Doç. Dr. Yavuz İMAMOĞLU	03 June 1985	13 January 1986
21	Dr. Necdet ÖZATALAY	14 January 1986	24 February 1986
22	M. Seyfi GÜLALIOĞLU	21 May 1986	28 November 1986
23	Dr. Özgül ATAKENT	14 May 1987	02 August 1989
24	Dr. Abdurrahman KOÇER	21 August 1989	14 February 1990
25	Dr. Mehmet Ali AKSOY	14 February 1990	12 October 1990
26	Dr. Mehmet KESKİN	24 October 1990	28 November 1990
27	Prof. Dr. Mevlüt ERTAN	28 November 1990	12 March 1991
28	Mustafa ULUSOY	12 March 1991	31 March 1993
29	Prof. Dr. Mehmet ERDAL	31 March 1993	29 June 1993
30	Mustafa ULUSOY	29 June 1993	07 September 1993
31	Prof. Dr. İsmail Hakkı GÖKHUN	11 August 1993	02 May 1994
32	Spe. Bo. İbrahim ÇAKIR	02 May 1994	11 November 1994
33	Prof. Dr. Nazmi ÖZER	11 November 1994	To date

26.4.1995, Cumhuriyet

HEALTH COOPERATION WITH JAPAN

A protocol has been signed between the Ministry of Health and the Japan International Cooperation Agency (JICA), to continue the 3 billion \$ project which started two years ago. Project officials stated that modern equipment have been provided for the Hygiene Center, within the frame of this project, they added that 18 Japanese experts came to Turkey and 9 personnel have been sent to Japan for training.

Japonlarla sağlık işbirliği

■ANKARA (Cumhuriyet Bürosu) - Türkiye ile Japonya arasında 2 yıl önce başlatılan 3 milyar dolarlık projenin sürdürülmesi amacıyla Sağlık Bakanlığı, Japon Teknik İşbirliği Ajansı (JICA) arasında protokol imzalandı. Projeye Hıfzıssaha'nın modern cihazlarla donatıldığını belirterek, proje kapsamında bugüne kadar 18 Japon uzmanın eğitim amacıyla Türkiye'ye geldiğini, 9 personelin de Japonya'ya eğitime gönderildiğini bildirdi.



Bakan Doğan Baran ve Ankara Valisi Erdoğan Şahinoğlu, Karum'daki standı gezerken bazı çocukları kucaklarına aldılar ve ağızlarından aşı damlattılar.. (Ayşe KESKALAN)

Bakan ve Vali aşıda!

Çocuk Felci Aşısı standını gezdiler

● Sağlık Bakanı Doğan Baran ve Ankara Valisi Erdoğan Şahinoğlu, "Ulusal Aşı Günleri" dolayısıyla Karum'da açılan Çocuk Felci Aşısı standını gezdiler. Bakan Baran, çocuk felci aşısının kısırlığa yol açtığı şeklindeki söylentileri yalanlarken "Hastalığın kendisi kısırlık yapmıyor ki aşısı yapsın" dedi.

Kampanyaya katılım beklenenin üzerinde

● Vali Şahinoğlu ise, Ankara'da çocuk felci vakalarına çok rastlanmadığını, geçen yıl sadece üç çocuk felci olayı yaşandığını belirtti. Aşı kampanyasına katılımın beklenenden fazla olduğunu belirten Şahinoğlu, "İki günde yüzde 51 oranında katılım oldu. Bu oldukça sevindirici bir durum" diye konuştu.

Minister Doğan Baran and Ankara Governor Erdoğan Şahinoğlu dripped vaccine to children's mouths while they were wandering around the stand for the campaign in Karum.

Minister & Governor at Vaccine Campaign

They visited the Polio vaccine stand Participation is more than expected

● Health Minister Doğan Baran and Ankara Governor Erdoğan Şahinoğlu visited Polio stand in Karum for the occasion of "National Vaccine Days" Minister Baran denies the rumours on the vaccine, causing infertility and says that the disease itself does not cause infertility, how come!"

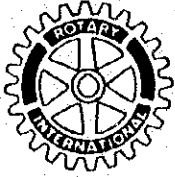
● Governor Şahinoğlu states "Polio is a rare case, only 3 last year. Participation is more than expected within two days the participation rate is 51 per cent. This is a happy situation"

ÜLKEMİZ ÇOCUKLARINI AŞI OLMAYA DAVET EDİYORUZ!...

ÇOCUK FELCİ AŞI GÜNLERİ

22 - 28 Nisan 1995

22 - 28 Mayıs 1995



ROTARY

İş ve Meslek Adamlarının
Topluma Hizmet Kuruluşudur



TÜRK ROTARYENLERİ
BU KAMPANYADA
AŞILANACAK
7 MİLYON ÇOCUK
İÇİN GEREKLİ
19 MİLYON DOZ
AŞIYI TEMİN
ETMENİN,
KAMPANYAYI TÜM
GÜCÜ İLE
DESTEKLEMENİN
GURUR VE
MUTLULUĞUNU
YAŞAMAKTADIR.



TÜRKİYE'DE ÇOCUK FELCİ KALMAYACAK

T.C. Sağlık Bakanlığı ve Türkiye Rotary Kulüpleri

JICA