

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Вакцина оспенная

ФС.3.3.1.0035.15

эмбриональная живая

Взамен ФС 42-3110-95

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину оспенную эмбриональную живую, таблетки жевательные для орального применения. Вакцина представляет собой вирус вакцины, выращенный в хорионаллантоисной оболочке (ХАО) и плодике куриного эмбриона (КЭ), и высушенный со стабилизатором без консерванта. В таблетке содержится вирусодержащий материал и вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению.

Вакцина оспенная эмбриональная живая предназначена для профилактики натуральной оспы и заболеваний, вызываемых вирусами оспы животных, патогенными для человека.

ПРОИЗВОДСТВО

Все этапы производства вакцины должны осуществляться с соблюдением установленных требований к правилам организации производства и контролю качества лекарственного препарата, гарантирующих его качество и безопасность для человека.

Производство вакцины оспенной эмбриональной живой должно проводиться в отдельных изолированных помещениях, в которых не допускается производство других лекарственных средств. Условия производства должны соответствовать требованиям Санитарных правил «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Основные этапы производства:

- получение вирусосодержащего материала путем введения посевного вируса на ХАО КЭ;
- инкубирование инфицированных эмбрионов, извлечение плодика и ХАО из эмбриона;
- гомогенизация материала;
- приготовление жидкой вакцины и добавление стабилизатора;
- лиофильная сушка материала;
- подготовка и расчет вспомогательных веществ для получения таблеток;
- прессование таблеток.

Характеристика материалов животного происхождения, используемых в производстве. В качестве продуцента для производства вакцины и посевного материала используют 12-суточные куриные эмбрионы пород «Леггорн», «Роменбраун», «Родонит», «Изобраун», «Русская белая», кросс 46, линия П4, П6. Яйца куриные инкубационные получают из птицеводств, свободных от вирусных и других заболеваний, патогенных для человека.

Требования к производственному штамму. Для производства вакцины оспенной эмбриональной живой используют штамм вируса осповакцины БИЭМГ (Б-51). Для приготовления вакцины используется посевной вирус первых 10 пассажей.

Штамм должен отвечать следующим требованиям:

- формировать на ХАО КЭ два вида (специфических образований) оспин: не менее 80 % белых плотных оспин размером 1 – 5 мм («белый» клон) и не более 20 % сероватых расплывчатых поверхностных оспин размером 1 – 3 мм («серый» клон);

- при культивировании на ХАО КЭ при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение (42 – 48) ч вирус вакцины должен накапливаться в концентрации 10^8 ООЕ/мл (ООЕ – оспообразующие единицы);

- не вызывать некроз кожи кроликов при внутрикожном введении в дозе 10^4 ООЕ в 0,1 мл;

– не вызывать гибели кроликов при внутримозговом введении в дозе 10^6 ООЕ в 0,1 мл;

– быть безвредным (нетоксичным) для морских свинок и белых мышей в дозах соответственно $3 \cdot 10^7$ и $1,2 \cdot 10^6$ ООЕ/мл при подкожном введении.

Допустимое количество микроорганизмов в пересчете на 1 мл:

– общее число аэробных бактерий – не более 10^3 ;

– общее число грибов – не более 10^2 ;

– должны отсутствовать *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Производственный штамм контролируется на каждом пассажном уровне.

ИСПЫТАНИЯ

Описание. Таблетки жевательные круглые двояковыпуклые с риской и цельными краями диаметром 8 – 13 мм светло-коричневого цвета с запахом ванили. Определение проводят органолептически. По внешнему виду таблетки должны соответствовать требованиям ОФС «Таблетки».

Подлинность. Вакцина должна вызывать на хорионаллантоисных оболочках 12-суточных КЭ характерные специфические образования (оспины) 2 видов: не менее 80 % белых плотных оспин размером 1 – 5 мм («белый» клон), не более 20 % расплывчатых сероватых поверхностных оспин размером 1 – 3 мм («серый» клон). Контроль проводят одновременно с определением специфической активности (раздел «Специфическая активность»).

Средняя масса и отклонение от средней массы. От 0,2 до 1 г. Определение проводят в соответствии с ОФС «Таблетки».

Распадаемость. Должны распадаться в течение 1 ч. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

Потеря в массе при высушивании. Не более 3,0 %. На 2 параллельных анализа используют не менее 7 таблеток. Определение проводят по ОФС «Потеря в массе при высушивании».

Микробиологическая чистота. Допустимое количество в пересчете на 1 г таблеток:

- общее число аэробных бактерий – не более 10^3 ;
- общее число грибов – не более 10^2 ;
- должны отсутствовать *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Определение проводят по ОФС «Микробиологическая чистота». Масса исследуемых таблеток должна быть не менее 3 г. Таблетки в асептических условиях помещают в фарфоровую ступку с пестиком, растирают и суспендируют в 0,004 М стерильном фосфатно-цитратном буферном (ФЦБ) растворе Мак-Ильвейна в соотношении 1:10 (1 г в 10 мл).

Примечания.

1. Приготовление ФЦБ раствора Мак-Ильвейна 0,004 М (рН 7,2 – 7,4). Готовят растворы 1 и 2.

Раствор 1: Лимонная кислота – 2,1 г; Вода очищенная – 100 мл.

Раствор 2: В мерной колбе вместимостью 1000 мл в воде очищенной растворяют 28,4 г натрия гидрофосфата безводного или 35,6 г натрия гидрофосфата дигидрата или 71,6 г натрия гидрофосфата додекагидрата, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают.

Смешивают 2 мл раствора 1 и 18 мл раствора 2 в мерной колбе вместимостью 1000 мл, доводят объем раствора водой очищенной до метки и перемешивают. Полученный раствор должен иметь рН 7,2 – 7,4. Если рН полученного раствора более 7,4, его доводят до нормы раствором 1. В случае, если рН полученного раствора меньше 7,2, приготовление раствора повторяют. Буферный раствор стерилизуют при температуре (120 ± 1) °С и давлении $(0,1 \pm 0,01)$ МПа в течение 8 – 30 мин (в зависимости от объема) или фильтруют через мембраны с диаметром пор 0,22 мкм и хранят при температуре от 2 до 8 °С. Срок хранения от 10 до 30 сут в зависимости от способа укупорки флаконов (способ укупорки флаконов должен быть указан в нормативной документации).

Аномальная токсичность. Препарат должен быть нетоксичен для морских свинок массой 250 – 300 г и белых мышей массой 18 – 20 г при

подкожном введении 1 и 1/25 прививочной дозы соответственно. Испытания проводят по ОФС «Аномальная токсичность».

Для определения токсичности используют не менее 4 таблеток. Таблетки растирают в стерильной ступке и суспендируют в 0,9 % стерильном растворе натрия хлорида из расчета 5 мл на таблетку. После отстаивания в течение 45 – 60 мин вводят 5 мл надосадочной жидкости (по 2,5 мл в каждый бок) 2 морским свинкам и по 0,2 мл 5 беспородным белым мышам в холку. Наблюдение за животными проводят в течение 7 сут. В случае развития абсцесса или гибели хотя бы 1 животного производят повторный анализ на удвоенном количестве животных. Если при повторном анализе вновь регистрируются вышеперечисленные явления, серию препарата бракуют.

Специфическая активность. Одна прививочная доза препарата должна содержать не менее $1 \cdot 10^6$ и не более $3 \cdot 10^7$ ООЕ вируса вакцины.

Испытания проводят биологическим методом на ХАО 12-дневных КЭ от кур породы «Леггорн», «Роменбраун», «Родонит-2», «Изобраун» или «Хайсек», или пород кур, эмбрионы которых чувствительны к вирусу осповакцины. Объем выборки составляет не менее 7 прививочных доз (4 таблетки).

Куриные эмбрионы получают из хозяйств, свободных от вирусных и других возбудителей, патогенных для человека.

Подготовка КЭ. Проводят овоскопию КЭ в затемненном помещении. Каждый эмбрион просматривают в направленном пучке света. Свет должен падать сверху на тупой конец яйца. Яйцо с погибшим эмбрионом или с кровоизлиянием под оболочкой бракуют. В центре воздушного мешка на тупом конце яйца и на боковой поверхности яйца, на участке между сосудами и их ответвлениями карандашом делают отметку. В местах отметок с соблюдением правил асептики пропиливают бормашиной с абразивным диском отверстия (щели) длиной 3 – 4 мм и шириной 1,5 мм, не повреждая оболочки. Яйцо укладывают так, чтобы отверстие на боковой стороне было обращено вверх. Подскорлупную оболочку в центре воздушного мешка

прорывают плоской полукруглой хирургической иглой. Затем на отверстие, расположенное на боковой поверхности, вносят 0,1 мл стерильного 0,004 М раствора ФЦБ Мак-Илвейна, подогретого до температуры $(50 \pm 5) ^\circ\text{C}$, и той же иглой осторожно продавливают подскорлупную оболочку. После этого практически вся капля раствора проходит под подскорлупную оболочку и частично отслаивает ХАО.

Из отверстия (в месте пропила) в центре воздушного мешка резиновой грушей осторожно отсасывают воздух до полного опускания ХАО. Яйца с опущенной ХАО помещают на лотки отверстием на боковой поверхности вверх и помещают в камеру с температурой $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Через 2 ч проводят овоскопию и бракуют эмбрионы с кровоизлияниями и воздушными мешками под ХАО или без воздушных мешков.

Приготовление десятикратных разведений. Таблетки взвешивают с точностью до 0,001 г, растирают в фарфоровой ступке и добавляют стерильный ФЦБ из расчета 10 мл на 1 г таблеток (соотношение 1:10 – «исходное разведение пробы»). В полученной взвеси дают отстояться грубым частицам в течение 45 мин. Из надосадочной жидкости пробы готовят 2 параллельных ряда последовательных десятикратных разведений. С этой целью отбирают по 0,5 мл испытуемого образца и вносят в 2 пробирки, содержащие 4,5 мл стерильного ФЦБ, получают разведение 10^{-1} . Содержимое пробирок перемешивают с помощью пипеток не менее 30 раз. Из каждой пробирки с разведением 10^{-1} по 0,5 мл разведенного материала пипеткой переносят в последующую пробирку с 4,5 мл ФЦБ, не касаясь жидкости пипеткой, получают разведение 10^{-2} , и т.д. до разведения 10^{-5} , меняя пипетки после каждого разведения.

Примечание.

В используемый ФЦБ (раздел «Микробиологическая чистота») добавляют бензилпенициллин калия или натрия и стрептомицина сульфат из расчета 250 ед. активности каждого антибиотика в 1 мл ФЦБ.

Инфицирование КЭ. Для инфицирования КЭ используют разведения вакцины 10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} , предварительно объединенные из 2 параллельных

рядов. Каждое разведение материала вводят на ХАО 15 КЭ по $(0,10 \pm 0,05)$ мл в отверстие на боковой поверхности яйца. Круговым вращением яйца вирус равномерно распределяют по ХАО. Инокулированные эмбрионы инкубируют при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 42 – 48 ч. По окончании инкубации КЭ вскрывают, изолируют ХАО, промывают её в воде, раскладывают на темном фоне и подсчитывают количество оспин на ХАО для каждого разведения. Из испытания исключают КЭ с поврежденной ХАО и погибшие.

Учет результатов. Вычисляют среднее арифметическое количество оспин на ХАО КЭ, инфицированных разведением вакцины, вызвавшим образование не менее 10 оспин (допускается расчет по максимальному разведению, содержащему не менее 80 % таких КЭ).

Расчет специфической активности (A) в ООЕ проводят по формуле:

$$A = 10 \cdot \frac{B}{c \cdot d \cdot e},$$

где 10 – коэффициент исходного разведения пробы;

B – среднее арифметическое количество оспин на ХАО КЭ;

C – разведение исходной пробы;

d – объем инокулята, вводимого в КЭ;

e – количество таблеток (доз) в 1 г анализируемого образца.

Для определения чувствительности КЭ к вирусу вакцины параллельно с определением специфической активности на той же партии КЭ проводят определение специфической активности стандартного образца (СО) активности специфичности и некротической активности оспенной вакцины в соответствии с инструкцией по применению. На каждое разведение используют 15 КЭ.

Если полученная величина специфической активности СО отличается от указанной в паспорте, то вычисляют поправочный коэффициент (K_n) чувствительности данной партии КЭ к вирусу вакцины по формуле:

$$K_n = \frac{A_c}{A_1},$$

где A_c – специфическая активность СО, указанная в паспорте, ООЕ/мл;

A_1 – полученная специфическая активность СО, ООЕ/мл.

Результаты определения специфической активности испытуемой серии препарата умножают на поправочный коэффициент K_p .

Упаковка и маркировка. В соответствии с ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты».

Транспортирование и хранение. При температуре от 2 до 8 °С.