

## ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

---

<b>Вакцина паротитная</b>	<b>ФС.3.3.1.0036.15</b>
<b>культуральная живая</b>	<b>Взамен ФС 42-3251-95</b>

---

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину паротитную культуральную живую (лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения), представляющую собой препарат, содержащий аттенуированный вакцинный штамм вируса паротита Ленинград-3 (Л-3), выращенный на первичной культуре фибробластов эмбрионов перепелов (ФЭП).

Вакцина предназначена для плановой и экстренной профилактики эпидемического паротита.

### ПРОИЗВОДСТВО

Производство вакцины паротитной культуральной живой должно осуществляться с соблюдением установленных требований к правилам надлежащей организации производства и контроля качества лекарственных препаратов на всех этапах производства, в основе которого заложена система посевных вирусов.

В качестве субстрата для накопления вируса используют первичную культуру ФЭП.

Производство вакцины должно обеспечивать стабильность показателей качества готового продукта.

Качество исходного сырья и материалов, используемых в производстве, должно быть подтверждено соответствующими документами.

**Состав вакцины.** Одна прививочная доза препарата (0,5 мл) содержит:

- активный компонент: вирус паротита – не менее 20 000 (4,3 lg) тканевых цитопатогенных доз (ТЦД<sub>50</sub>);
- вспомогательные вещества: стабилизатор, состав и количество которого указывают в нормативной документации.
- антибиотик – гентамицина сульфат – не более 20 мкг, если нет других указаний в нормативной документации.

### **Производственный штамм**

Производственный штамм – вируссодержащая жидкость, приготовленная путем пассирования вакцинного штамма вируса паротита в производственном клеточном субстрате. Производственный штамм должен быть идентифицирован с помощью документов, которые должны включать сведения о происхождении штамма, методе аттенуации и уровне пассажа, на котором аттенуация была подтверждена результатами клинических испытаний. С помощью соответствующих лабораторных методов и клинических испытаний на восприимчивых к эпидемическому паротиту людях должно быть доказано, что штамм вируса эпидемического паротита, используемый в производстве вакцины, безопасен и иммуногенен.

Производственный штамм вируса паротита, приготовленный из вакцинного штамма Л-3, депонирован в официальной Государственной коллекции вирусов.

Производственный штамм должен отвечать следующим требованиям:

- быть специфичным;
- обладать генетической стабильностью;
- иметь специфическую активность не ниже 3,5 lgТЦД<sub>50</sub>/0,5 мл;
- быть стерильным: не содержать бактерий, грибов, микоплазм, микобактерий туберкулеза и посторонних вирусов;
- должен обладать репродуктивной активностью: вызывать специфическую дегенерацию в чувствительных культурах клеток, сопровождающуюся накоплением вируса в питательной среде;

- не обладать аномальной токсичностью;
- не обладать остаточной нейровирулентностью при интрацеребральном введении обезьянам;
- не быть контагиозным;
- потеря в массе при высушивании должна быть не более 2 %;
- должен сохраняться в лиофилизированном виде при температуре минус  $(60\pm 10)$  °С.

По указанным показателям должна быть проверена каждая новая серия производственного штамма.

Производственный штамм в процессе хранения должен быть проверен на генетическую стабильность (не реже 1 раза в 5 лет).

Примечание.

Испытание производственного штамма, посевного вируса, клеточной культуры, сыворотки крупного рогатого скота на присутствие микоплазм должно проводиться двумя методами: цитохимическим и микробиологическим. Испытание на присутствие микоплазм в вирусных сборах, нерасфасованной вакцине и в готовом продукте следует проводить микробиологическим методом.

### **Посевной вирус**

Посевной вирус – вируссодержащая жидкость, полученная путем однократного пассирования промежуточного пассажа производственного штамма на производственном субстрате; служит в качестве посевного материала для изготовления вакцины. Посевной вирус должен обладать теми же характеристиками, что и штамм, из которого он получен. Каждая серия посевного вируса должна быть идентифицирована как вирус эпидемического паротита с помощью соответствующих методов.

Каждая серия посевного вируса должна быть проверена на остаточную нейровирулентность, что определяют в тесте на обезьянах по ОФС «Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи».

Требования к специфической безопасности вакцины касаются не только отсутствия остаточной нейровирулентности, но также и наличия генетической стабильности производственного штамма и посевных серий. Следует оценивать генетическую стабильность новых посевных серий вируса паротита так же, как и новых серий производственного штамма. Сравнительный анализ секвенированных последовательностей генома вируса в указанных производственных материалах должен подтвердить их идентичность структуре вакцинного штамма.

Методы культивирования должны обеспечивать сохранение иммуногенных свойств готового препарата, его безопасность и предотвращать контаминацию посторонними вирусами, бактериями, грибами и микоплазмами.

Пассажный уровень вируса в готовом препарате должен быть ограничен. Допускается пассирование производственного штамма и посевных вирусов в культуре ФЭП с таким расчетом, чтобы готовая вакцина содержала вирус, прошедший не более 10 пассажей от вакцинного штамма.

Особое внимание уделяют обеспечению стабильности таких параметров, как множественность заражения и условия культивирования (продолжительность и температура инкубации).

Рекомендуется хранить большой объем серии посевного вируса в качестве основного материала, который изготовитель должен использовать для производства коммерческих серий вакцины. Серии посевного вируса в лиофилизированном виде следует хранить при температуре ниже минус 20 °С, а в нелиофилизированном виде – при температуре ниже минус 60 °С.

#### **Клеточный субстрат, используемый для производства**

Субстратом для размножения и накопления вируса паротита является первичная культура ФЭП. Оплодотворенное перепелиное яйцо должно быть получено от птиц, которые содержатся в изолированных специализированных хозяйствах, свободных от вирусов лейкоза птиц и других микроорганизмов, патогенных для птиц. Птиц в этих хозяйствах

постоянно контролируют на отсутствие аденовируса птиц 1-ой, 3-ей и 4-ой групп, энцефаломиелита птиц, гриппа птиц типа А, парамиксовируса, реовируса, пневмовируса, оспы и туберкулеза птиц, вируса анемии цыплят, инфекционного бронхита, бурсита и ларинготрахеита, лейкоза и микоплазмоза птиц, вирусов лимфоидного лейкоза, болезни Марека и Ньюкастла, гемофильной инфекции, сальмонеллеза, пастереллеза, орнитоза и др. инфекционных заболеваний птиц.

При культивировании клеток не допускается использование нативной сыворотки крови человека.

Питательная среда для клеток может содержать рН индикатор, например, феноловый красный, а также разрешенные антибиотики в минимальной эффективной концентрации. Не допускается использование пенициллина и стрептомицина.

Материалы от животных, которые используют при производстве вакцины, получают из хозяйств, благополучных в отношении бактериальных, вирусных, прионовых и других заболеваний, опасных для человека. Сыворотка крови крупного рогатого скота должна быть получена от животных из стада, в котором отсутствуют такие заболевания, как спонгиозная энцефалопатия и лейкоз крупного рогатого скота. Трипсин, используемый для приготовления клеточной культуры, не должен содержать микоплазм, цирко- и парвовирусов свиней, а также должен быть испытан на отсутствие контаминации бактериями и грибами.

### **Вещества, вносимые в препарат**

К веществам, вносимым в препарат, относят сыворотку крови крупного рогатого скота, которая используется для выращивания клеточной культуры. Сыворотка должна быть испытана на отсутствие контаминации вирусами, бактериями, грибами, микоплазмами.

Сыворотка крови животных должна быть удалена после инокуляции культуры клеток посевным вирусом. Перед сбором вируса культуру клеток отмывают, и ростовую среду заменяют бессывороточной поддерживающей

средой. Наличие остаточного количества бычьего сывороточного альбумина (БСА) не должно превышать 50 нг в одной прививочной дозе (0,5 мл). Определение проводят иммунохимическим методом на образце готовой серии.

### **Испытания на этапах производства**

В процессе производства проводят исследование на присутствие контаминантов в культуральной жидкости, собранной с культур контрольных клеток, в образцах индивидуальных вирусных сборов и в образцах объединенных вирусных сборов. Индивидуальные вирусные сборы контролируют на стерильность и специфическую активность. Объединенные вирусные сборы контролируют на стерильность, присутствие микоплазм, микобактерий, посторонних вирусов, содержание белка, интактных клеток, специфическую активность. В готовой жидкой нерасфасованной вакцине проверяют специфическую активность, стерильность, присутствие микоплазм.

При производстве вакцины особое значение имеет постоянное выполнение на всех этапах производства внутрипроизводственного анализа основных показателей качества и анализа качества готовой продукции при выпуске.

## **ИСПЫТАНИЯ**

**Описание.** Лиофилизат – однородная пористая масса. Цвет лиофилизата указывают в нормативной документации. Определение проводят визуально.

Восстановленный препарат – прозрачная жидкость. Цветность восстановленного препарата указывают в нормативной документации. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Должен содержать вирус паротита. Определяют в реакции нейтрализации на культуре клеток *Vero*. Подлинность вируса паротита в вакцине устанавливают на основании нейтрализации цитопатогенного действия (ЦПД) вируса паротита специфической иммунной

сывороткой, содержащей антитела к вирусу паротита. В реакции используют аттестованный стандартный образец паротитных антител.

**Время растворения.** Вакцина должна растворяться в течение 3 мин при внесении в ампулу 0,5 мл растворителя для вакцины на дозу. Определение проводят визуально.

**Механические включения.** Восстановленный препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парэнтерального применения и в глазных лекарственных формах»

**pH (восстановленного препарата).** От 7,2 до 7,8, если нет других указаний в нормативной документации. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 2,0 %. Определение проводят гравиметрическим методом в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании».

**Бычий сывороточный альбумин.** Не более 50 нг в одной прививочной дозе. Определение проводят подходящим количественным иммунохимическим методом, указанным в нормативной документации.

**Стерильность.** Препарат не должен содержать бактерий и грибов. Определяют методом прямого посева или мембранной фильтрации с использованием тиогликолевой среды при двух температурных режимах в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Присутствие микоплазм.** Препарат не должен содержать микоплазм. Определяют микробиологическим методом, в соответствии с ОФС «Испытание на присутствие микоплазм». Если при испытаниях на присутствие микоплазм сырья и материалов при входном контроле и на всех контрольных точках в технологическом процессе контаминация микоплазмами надлежащими методами не обнаружена, то испытание готовой серии препарата на присутствие микоплазм может не проводиться.

**Аномальная токсичность.** Препарат должен быть нетоксичным.

Испытание проводят биологическим методом на белых мышах и на морских свинках обоего пола. Животным вводят по одной прививочной дозе препарата в объеме 0,5 мл внутривенно, если нет других указаний в нормативной документации.

Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Специфическая активность.** Прививочная доза (0,5 мл) должна содержать не менее 20000 (4,3 lg) ТЦД<sub>50</sub> вируса паротита. Титр вируса определяют в каждой из 5 ампул серии готового препарата по ЦПД вируса на культуре клеток *Vero*. Каждый образец вакцины должен иметь специфическую активность не ниже регламентированной, в противном случае проводят повторный контроль специфической активности дополнительных 5 образцов, результат которого считают окончательным. Минимально регламентированное содержание вируса в прививочной дозе должно сохраняться в течение всего срока годности.

Одновременно с определением титра вируса в образцах серии проводят титрование стандартного образца (СО) активности вируса паротита. Одну ампулу стандартного образца титруют три раза для подтверждения достоверности каждого количественного определения активности.

Учет результатов проводят по ЦПД с помощью инвертированного микроскопа (увеличение: объектив 10× – окуляр 10×) в сроки, указанные в нормативной документации.

Наибольшее разведение вакцины, вызывающее ЦПД в 50 % лунок с зараженной клеточной культурой, принимают за титр вируса. Титр вируса в вакцине рассчитывают по методу Рида и Менча или Спирмена-Кербера.

При титровании вакцины в лунки планшетов вносят по 0,1 мл каждого разведения вакцины, т.е. объем, в 5 раз меньший, чем объем прививочной дозы. Для расчета активности вируса в прививочной дозе к титру вируса, рассчитанному в lg ТЦД<sub>50</sub>/0,1мл, добавляют постоянную величину, равную



lg 5, т.е. 0,7.

**Критерии приемлемости результатов:**

- диапазон доверительного интервала ( $P=0,95$ ) среднего значения титра СО, определенного при трехкратном титровании 1 ампулы, должен быть в пределах  $\pm 0,3 \lg \text{ТЦД}_{50}$ ;
- титр вируса в СО не должен отличаться более, чем на  $0,5 \lg \text{ТЦД}_{50}$  от аттестационного значения.

**Термостабильность.** Препарат должен быть термостабильным. Испытание проводят, определяя специфическую активность при одновременном титровании 5 образцов вакцины, инкубированных при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 7 сут и 5 образцов вакцины, хранившихся при температуре от 2 до  $8 ^\circ\text{C}$ . Препарат считают прошедшим испытание, если средняя геометрическая величина титра вируса образцов после прогревания снижается не более, чем на 1 lg .

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

Дополнительная информация: субстрат культивирования вируса и предупредительные надписи: «Хранить при температуре от 2 до  $8 ^\circ\text{C}$  в недоступном для детей месте», «Избегать контакта вакцины с дезинфицирующими средствами».

**Транспортирование и хранение.** При температуре от 2 до  $8 ^\circ\text{C}$ .