

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Анатоксин дифтерийно-столбнячный	ФС.3.3.1.0002.15
Адсорбированный	Взамен ГФ X, ст. 61
(АДС-анатоксин)	ФС 42- 3361-97

Настоящая фармакопейная статья распространяется на иммунобиологический лекарственный препарат - анатоксин дифтерийно-столбнячный адсорбированный (АДС-анатоксин), который представляет собой дифтерийный и столбнячный анатоксины, полученные из соответствующих экзотоксинов путем обезвреживания формальдегидом при нагревании, которые адсорбированы на алюминия гидроксиде или другом минеральном сорбенте, разрешенном к применению.

АДС-анатоксин предназначен для специфической профилактики дифтерии и столбняка.

ПРОИЗВОДСТВО

Все этапы производства АДС-анатоксина должны быть валидированы с целью подтверждения установленных требований и должны гарантировать безопасность его применения.

Столбнячный анатоксин

При производстве столбнячного анатоксина используют штаммы/штамм *Clostridium tetani*, полученные и депонированные в Государственной коллекции. Микробные клетки культивируют на жидких питательных средах, обеспечивающих высокую продукцию столбнячного токсина. Методы культивирования должны гарантировать сохранение свойств штаммов и предотвращать их контаминацию. Токсинсодержащую

культуральную жидкость, освобожденную от микробных клеток и продуктов их распада, проверяют на стерильность, рН и содержание токсина.

Для производства столбнячного анатоксина используют культуральную среду с активностью токсина не менее $15 \text{ L}/_{100}$ в 1 мл. Детоксикация столбнячного токсина должна обеспечивать сохранение антигенной активности анатоксина и гарантировать его безопасность: отсутствие остаточной токсичности (специфическая безопасность) и реверсии токсических свойств.

Определение специфической безопасности столбнячного анатоксина. Испытание проводят на 5 морских свинках массой тела 250–350 г, которым вводят подкожно 1500 Lf (суммарно в бок и внутреннюю поверхность верхней трети бедра) столбнячного анатоксина. В течение 21 сут наблюдения у животных не должны обнаруживаться признаки столбняка (ригидность лапки, искривление позвоночника или сочетание указанных признаков) и потери массы тела. Если установлена гибель более 1 животного по причине, не связанной со специфической интоксикацией, испытание повторяют. Если при повторном испытании фиксируют гибель более 1 животного, столбнячный анатоксин признают не прошедшим испытание.

Реверсия токсичности столбнячного анатоксина. Готовят раствор, содержащий столбнячный анатоксин, консервант (при его наличии) в 0,9 % растворе натрия хлорида в концентрации, принятой для готового продукта. Полученную смесь делят на 2 части и выдерживают в течение 42 сут: первую – при температуре $(37 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, вторую – при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$. Каждый образец вводят подкожно 5 морским свинкам с массой тела 250 – 350 г в объеме 5 мл (по 2,5 мл в оба бока). Наличие признаков столбняка в течение 21 сут наблюдения за животными свидетельствует о присутствии в пробе столбнячного токсина.

Для характеристики очищенного столбнячного анатоксина определяют его рН, специфическую (антигенную) активность, содержание общего и белкового азота, антигенную чистоту (удельную активность).

Столбнячный анатоксин должен быть очищен от примесей, вызывающих побочные реакции при введении человеку.

Для производства АДС-анатоксина используют только стерильный и безопасный столбнячный анатоксин с антигенной чистотой не менее 1000 ЕС (или Lf) на мг белкового азота.

Дифтерийный анатоксин

При производстве дифтерийного анатоксина используют токсигенный штамм *Corynebacterium diphtheriae*, полученный и депонированный в Государственной коллекции. Микробные клетки культивируют на жидких питательных средах, обеспечивающих высокую продукцию дифтерийного токсина. Методы культивирования должны гарантировать сохранение свойств штамма и предотвращать его контаминацию. Токсинсодержащую культуральную жидкость, освобожденную от микробных клеток и продуктов их распада, проверяют на стерильность, рН и содержание токсина.

Для производства дифтерийного анатоксина используют культуральную среду с активностью токсина не менее 80 Lf в 1 мл. Детоксикация дифтерийного токсина должна обеспечивать сохранение антигенной активности анатоксина и гарантировать его безопасность: отсутствие остаточной токсичности (специфическая безопасность) и реверсии токсических свойств.

Определение специфической безопасности дифтерийного анатоксина. Морским свинкам (5 животным) массой 250 – 350 г вводят подкожно 1500 Lf (суммарно в оба бока) дифтерийного анатоксина. В течение 42 сут наблюдения у животных не должны обнаруживаться изъязвления, инфильтраты, абсцессы, некрозы на местах инъекций и потеря массы тела. Если наблюдается гибель хотя бы 1 животного от дифтерийной

интоксикации (красные надпочечники при аутопсии погибших животных), дифтерийный анатоксин применению не подлежит. Если устанавливают гибель более 1 животного по причине, не связанной с дифтерийной интоксикацией, испытание повторяют. Если при повторном испытании фиксируют гибель более 1 животного, дифтерийный анатоксин считают не прошедшим испытание.

Реверсия токсичности дифтерийного анатоксина. Готовят раствор, содержащий дифтерийный анатоксин, консервант (при его наличии) в 0,9 % растворе натрия хлорида в концентрации, принятой для готового продукта. Полученную смесь делят на 2 части и выдерживают в течение 42 сут: первую – при температуре (37 ± 1) °С, вторую – при температуре от 2 до 8 °С. По 0,1 мл каждого образца вводят внутрикожно 2 морским свинкам массой 250 – 350 г или кролику массой $(2,5 \pm 0,5)$ кг в объеме 0,2 мл. Наличие реакций на месте инъекции в течение 4 сут наблюдения свидетельствует о присутствии во введенном растворе дифтерийного токсина.

Для характеристики очищенного дифтерийного анатоксина определяют его рН, специфическую (антигенную) активность, содержание общего и белкового азота, антигенную чистоту (удельную активность). Дифтерийный анатоксин должен быть очищен от примесей, вызывающих побочные реакции при введении человеку.

Для производства АДС-анатоксина используют только стерильный и безопасный дифтерийный анатоксин, содержащий не менее 1500 Lf на мг белкового азота.

Показатели, которые влияют на качество, но не могут быть определены в конечном продукте, должны быть проверены на промежуточных стадиях производства, что должно быть отражено в нормативной документации.

Прививочная доза (0,5 мл) содержит 30 Lf дифтерийного и 10 Lf/ЕС столбнячного анатоксинов. В состав лекарственного средства может входить консервант.

ИСПЫТАНИЯ

Описание. Опалесцирующая жидкость белого цвета, которая может иметь сероватый или желтоватый оттенок. При отстаивании разделяется на рыхлый осадок белого или белого с сероватым или желтоватым оттенком цвета, легко диспергируемый при встряхивании, и прозрачную бесцветную надосадочную жидкость. Определяют визуально. Наблюдение проводят в проходящем свете.

Подлинность. Должен обладать специфической (иммуногенной) активностью, обеспечивая защиту от действия дифтерийного и столбнячного токсинов. Определение проводят в соответствии с разделом «Специфическая активность». Могут быть использованы альтернативные методы, подтверждающие наличие в лекарственном препарате дифтерийного и столбнячного анатоксинов, обладающих антигенной активностью.

Механические включения. Видимые механические включения должны соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

pH. От 6,4 до 7,3, если нет других указаний в нормативной документации. Испытания проводят потенциометрическим методом с неразведенным АДС-анатоксином в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Размер частиц (дисперсность). Должен свободно проходить в шприц через иглу № 0840, если нет других указаний в нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС «Инъекционные лекарственные формы. Лекарственные средства для парентерального применения».

Время седиментационной устойчивости. После встряхивания и получения гомогенной взвеси не должно наблюдаться полного расслаивания в течение не менее 1 мин, если нет других указаний в нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС «Инъекционные лекарственные формы. Лекарственные средства для парентерального применения».

Стерильность. Должен быть стерильным. Испытания проводят методами прямого посева или мембранной фильтрации в соответствии с ОФС «Стерильность». Для контроля используют тиогликолевую среду. Посевы инкубируют при температуре 30 – 35 и 20 – 25 °С.

Аномальная токсичность. Должен быть нетоксичным. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Белым мышам массой 16 – 18 г препарат вводят внутривентрально по 1 мл, морским свинкам – подкожно по 5 мл (по 2,5 мл в оба бока). За животными наблюдают 7 сут. В течение указанного времени не должны наблюдаться гибель животных и потеря массы тела.

Специфическая безопасность. Должен быть безопасным при подкожном введении 5 морским свинкам массой 250–350 г 10 прививочных доз для человека (по 5 доз в бок и лапку). Через 30 дней все животные должны остаться живыми без симптомов столбняка и потери массы тела. Если животное погибло от дифтерийной интоксикации (алая окраска и увеличение надпочечников при аутопсии погибших животных), препарат признается непригодным к применению. Если гибель животного или потеря массы тела произошла по причине, не связанной со специфической интоксикацией, испытание повторяют. Если при повторном испытании наблюдается гибель животных, лекарственный препарат не соответствует требованиям.

Специфическая (иммуногенная) активность. Специфическая активность прививочной дозы (0,5 мл) должна быть не ниже 30 МЕ для дифтерийного компонента и не ниже 40 МЕ для столбнячного компонента. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Иммуногенность адсорбированного дифтерийного анатоксина» и ОФС «Иммуногенность адсорбированного столбнячного анатоксина».

Полнота сорбции. В 1 мл надосадочной жидкости содержание неадсорбированного дифтерийного анатоксина не должно превышать 1 Lf,

неадсорбированного столбнячного анатоксина – 0,1 ЕС, если нет других указаний в нормативной документации.

Определение содержания неадсорбированного дифтерийного анатоксина в надсадочной жидкости проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания анатоксинов/токсинов в реакции флокуляции», неадсорбированного столбнячного анатоксина – в соответствии с ОФС «Определение содержания анатоксинов/токсинов в реакции антитоксинсвязывания», если нет других указаний в нормативной документации.

Формальдегид. Не более 100 мкг/мл. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение формальдегида в иммунобиологических лекарственных препаратах».

Производственные штаммы микроорганизмов. Раздел должен содержать следующую информацию: наименование штаммов; место их депонирования; допустимое количество пассажей (при необходимости) и методику их проведения с указанием условий культивирования; при необходимости – дополнительные к паспортным данным требования к характеристикам штаммов.

Консерванты. Концентрация консерванта не должна быть ниже минимально эффективной и не должна превышать указанную на упаковке более чем на 15 %. В качестве консерванта используют тиомерсал. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах». Не рекомендуется использование консервантов при производстве лекарственных препаратов, выпускаемых в однодозовой расфасовке.

Сорбенты. Алюминия гидроксид. Не более 1,1 мг/мл алюминия(III), если в нормативной документации нет иных указаний. Определение проводят комплексонометрическим методом в соответствии с ОФС

«Определение ионов алюминия в сорбированных иммунобиологических лекарственных препаратах».

Извлекаемый объем. Не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

Упаковка и маркировка. В соответствии с ОФС «Имунобиологические лекарственные препараты». На первичную упаковку наносят дополнительное указание «Встряхивать!». На вторичную упаковку наносят дополнительные указания «Перед употреблением встряхивать», «Замораживание не допускается».

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