

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

**Вакцина чумная живая,
таблетки для рассасывания**

**ФС.3.3.1.0021.15
Взамен ФС 42-3346-96**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину чумную живую, таблетки для рассасывания, представляющую собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Вакцина предназначена для профилактики чумы и вызывает развитие специфического иммунитета длительностью до 1 года.

ПРОИЗВОДСТВО

Все этапы производства вакцины должны гарантировать соблюдение установленных надлежащих правил, а также качество лекарственного препарата, гарантирующее его безопасность для человека.

Вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ должен обладать типичными морфологическими, культуральными и биохимическими свойствами; содержать плазмиды pFra, пестициногенности (pPst) и кальций зависимости (pCad) с молекулярными массами 60, ≈ 6 и ≈ 47 MDa соответственно; не должен вызывать гибели морских свинок и потери их массы при введении им дозы $15 \cdot 10^9$ микробных клеток (м.к.). Иммуногенность штамма по величине ED₅₀ при подкожном введении не должна превышать для морских свинок $1 \cdot 10^3$ м.к., для белых мышей – $1 \cdot 10^4$ м.к.

Перед приготовлением очередной серии вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ проводят его пассаж через организм морской свинки с по-

следующим отбором типичных колоний, выросших на чашках Петри из посевов селезенки или регионарных лимфатических узлов.

Технология изготовления вакцины предусматривает получение посевных культур *Y. pestis* EV линии НИИЭГ I, II и III генераций; процесса накопления биомассы, необходимой для приготовления микробной взвеси определенной концентрации; последующий розлив, замораживание, сублимационное высушивание; приготовление гранулята и таблеток; фасовку и упаковку препарата.

В зависимости от технологии приготовления вакцины в процессе производства используются вспомогательные вещества, разрешенные для использования в иммунобиологической промышленности: лактоза, декстрин, тиомочевина, аскорбиновая кислота, глюкоза, ментол, крахмал картофельный, какао-порошок, ванилин, кальция стеарат.

На стадиях приготовления посевных культур определяют рН, концентрацию микробных клеток и отсутствие посторонней микрофлоры.

ИСПЫТАНИЯ

Описание. Таблетка светло-коричневого цвета правильной круглой формы с цельными краями, ровной и плоской поверхностью. Имеет запах какао, ванилина и ментола. Определение проводят визуально.

Подлинность. Должна содержать чистую культуру вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Определение проводят иммунофлуоресцентным методом. Таблетку вакцины растирают в ступке, добавляют 49 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и тщательно перемешивают. Из полученной суспензии готовят три мазка, которые окрашивают иммуноглобулинами чумными диагностическими флуоресцирующими и просматривают под фазово-контрастным и люминесцентным микроскопами не менее 50 полей зрения в каждом. В мазках из препарата микробные клетки должны светиться по периферии ярко-зеленым цветом. Допускается наличие не более 1 неокрашен-

ной микробной клетки в 50 полях зрения.

Распадаемость. Таблетка должна распадаться в течение 15 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

Средняя масса. От 0,6 до 1,0 г. Определение проводят в соответствии с ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

pH растворенного препарата. От 6,8 до 7,4. Таблетку растворяют в 50 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Потеря в массе при высушивании. Не более 10,0 %. Определение проводят гравиметрическим методом в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании». На каждый из двух параллельных анализов используют навеску из 3 измельченных таблеток.

Микробиологическая чистота. Таблетка может содержать не более $1 \cdot 10^3$ микробных клеток (м.к.) бактерий непатогенных микроорганизмов.

Таблетку берут стерильным пинцетом, помещают во флакон вместимостью 100 мл, содержащий 49 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Флакон закрывают стерильной пробкой, устанавливают на платформу шуттель-аппарата и тщательно перемешивают до полного растворения таблетки и по 0,5 мл засевают на 5 чашек Петри с агаром Хоттингера, pH $(7,1 \pm 0,1)$. Посевы инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в течение 5 сут, после чего подсчитывают число выросших колоний.

Количество живых микробных клеток (N) непатогенных микроорганизмов в таблетке рассчитывают по формуле:

$$N = \frac{\sum_n \cdot 49}{0,5 \cdot m},$$

где: \sum_n – суммарное количество колоний, выросших на чашках Петри;

49 – объем 0,9 % раствора натрия хлорида, использованного для растворения таблетки, мл;

m – количество чашек Петри, использованных для посева; шт;

0,5 – объем суспензии, высеваемой на 1 чашку, мл.

При обнаружении хотя бы в одной таблетке более $1 \cdot 10^3$ живых м.к. испытание повторяют на удвоенном количестве таблеток. Если при повторном испытании число посторонних микроорганизмов в таблетке превышает 1×10^3 м.к., препарат считают не выдержавшим испытание.

Специфическая безопасность. Вакцина должна быть специфически безопасной. Испытание проводят на морской свинке массой (275 ± 25) г.

Таблетку вакцины растирают в ступке, добавляют 49 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и тщательно перемешивают., Полученную суспензию разводят до концентрации $15 \cdot 10^9$ м.к./мл и вводят подкожно 1 мл одной морской свинке в область внутренней поверхности бедра.

На 6-е сутки морскую свинку взвешивают, подвергают эвтаназии, отмечают патологоанатомические изменения, обнаруживаемые при вскрытии. Печень, селезенку, легкие, регионарные лимфатические узлы, кровь и ткани из места введения высевают методом отпечатков на чашку Петри с агаром Хоттингера, рН ($7,2 \pm 0,1$), с добавлением натрия сернистокислового в количестве 0,25 г на 1 л среды, и чашку Петри с агаром Хоттингера, рН ($7,2 \pm 0,1$), с добавлением генцианвиолета в количестве 0,05 г на 1 л среды. Посевы инкубируют при температуре (27 ± 1) °С в течение 3 сут.

Вакцина не должна вызывать у морской свинки потери массы к 6 сут после введения больше, чем на 20 %, не должна вызывать видимых патологоанатомических изменений в легких – кровоизлияний, очагов воспаления, гранулем, абсцессов; в посевах крови и легких не должно быть роста чумного микроба. В месте введения допускается развитие кровоизлияния и инфильтрата подкожной клетчатки, переходящих в некроз. Во внутренних органах

(селезенка и печень) допустимо развитие ограниченной узелковой реакции.

Специфическая активность

1. *Содержание живых микробных клеток.* Таблетка должна содержать от $30 \cdot 10^9$ до $50 \cdot 10^9$ живых микробных клеток вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.

При определении количества живых микробных клеток в вакцине используют концевые химически чистые пипетки, пробирки с 0,9 % раствором натрия хлорида должны быть охлаждены до температуры 2 до 8 °С.

Таблетку растирают в ступке, добавляют 49 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и тщательно перемешивают. Полученную суспензию вакцины разводят в 0,9 % растворе натрия хлорида последовательно десятикратно от 10^{-1} до 10^{-7} , используя для каждого разведения отдельную пипетку. Из разведения 10^{-7} высевают по 0,1 мл на 5 чашек Петри с агаром Хоттингера с добавлением стимулятора роста (кровь гемолизированная до 1 % концентрации или натрий сернистокислый (0,25 г на 1 л среды).

Посевы инкубируют в течение 3 сут при температуре (27 ± 1) °С, затем подсчитывают общее количество колоний на 5 чашках Петри. Количество живых микробных клеток (N) в таблетке рассчитывают по формуле:

$$N = \frac{\sum_n \cdot 10^8 \cdot 49}{m},$$

где: \sum_n – суммарное количество колоний, выросших на чашках;

10^8 – степень разведения;

49 – объем 0,9 % раствора натрия хлорида, использованного для растворения таблетки, мл;

m – количество чашек Петри, используемых для посева.

2. *Иммуногенность.* ED₅₀ для морских свинок не должна превышать $1 \cdot 10^4$, для белых мышей – $4 \cdot 10^4$ живых микробных клеток.

Испытания проводят на морских свинках массой (275 ± 25) г и на белых нелинейных мышах массой (19 ± 1) г 3 таблетки вакцины чумной живой растирают в ступке и растворяют в 0,9 % растворе натрия хлорида. Объем растворителя определяют, исходя из заранее определенного количества живых клеток в таблетке, с таким расчетом, чтобы 1 мл вакцины содержал $1 \cdot 10^9$ живых м.к. Далее определение проводят в соответствии с методикой, изложенной в ФС «Вакцина чумная живая».

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

Хранение и транспортирование. При температуре от 2 до 8 °С.