

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Вакцина против краснухи

ФС.3.3.1.0024.15

культуральная живая

Вводится впервые

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину против краснухи культуральную живую (лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения), представляющую собой препарат, содержащий аттенуированный вакцинный штамм вируса краснухи RA 27/3, выращенный на диплоидных клетках человека MRC-5.

Вакцина предназначена для плановой профилактики краснухи.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство вакцины против краснухи 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 диплоидные клетки человека MRC-5.

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 краснухи – не менее 1000 (3,0 lg) тканевых цитопатогенных доз (ТЦД₅₀);

– вспомогательные вещества: стабилизатор, состав и количество которого указывают в нормативной документации.

Производственный штамм

Производственный штамм – вирусодержащая жидкость, приготовленная путем пассирования вакцинного штамма вируса краснухи 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 краснухе людях должно быть доказано, что штамм вируса краснухи, используемый в производстве вакцины, безопасен и иммуногенен.

Производственный штамм вируса краснухи готовят из вакцинного штамма RA 27/3. Штамм депонирован в официальной Государственной коллекции вирусов.

Производственный штамм должен отвечать следующим требованиям:

- быть специфичным;
- обладать генетической стабильностью;
- иметь специфическую активность не ниже $4,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,5\text{мл}$;
- 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 храниться в лиофилизированном виде при температуре минус (60 ± 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 на присутствие микоплазм производственного штамма, посевного вируса, производственного и рабочих банков клеточной культуры, сыворотки крупного рогатого скота должно проводиться двумя методами: цитохимическим и микробиологическим. Испытание на присутствие микоплазм вирусных сборов, полуфабриката вакцины и готового продукта следует проводить микробиологическим методом.

Посевной вирус – вируссодержащая жидкость, полученная путем одного - двух пассажей производственного штамма на производственном субстрате; служит в качестве посевного материала для изготовления вакцины. Посевной вирус должен обладать теми же характеристиками, что и производственный штамм, из которого он получен. Каждая серия посевного вируса должна быть идентифицирована как вирус краснухи 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 краснухи 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 производственном субстрате с таким расчетом, чтобы готовая вакцина содержала вирус на том уровне пассажа, на котором ее безопасность и эффективность были подтверждены результатами клинических испытаний.

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

Рекомендуется хранить большой объем посевной серии в качестве материала 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 краснухи являются диплоидные клетки человека MRC-5. Для производства вакцины предприятие должно использовать культуры диплоидных клеток человека, выращенные из аттестованного надлежащим образом банка рабочих клеток в соответствии с международными и национальными требованиями и требованиями ОФС «Требования к клеточным культурам – субстратам производства иммунобиологических лекарственных препаратов».

Посевные клетки и банк рабочих клеток должны быть

охарактеризованы с точки зрения генеалогии, ростовых свойств, генетических маркеров, жизнеспособности во время хранения. С помощью соответствующих тестов должно быть подтверждено, что клетки не содержат бактерий, грибов, микоплазм, а также гемадсорбирующих, гемагглютинирующих и других вирусов. Также должно быть доказано, что клетки диплоидны и стабильны.

Все работы с банком клеток и последующими клеточными культурами проводят в асептических условиях в зоне, в которой одновременно не проводится работа с другими клетками.

Питательная среда для клеток может содержать рН индикатор, например, феноловый красный.

При культивировании клеток не допускается использование нативной сыворотки крови человека, а также пенициллина и стрептомицина.

Материалы от животных, которые используют при производстве вакцины, получают от животных 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, 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 культур 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 подходящим иммунохимическим методом. Количество БСА не должно превышать 50 нг в одной прививочной дозе. 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 вирусосодержащей жидкости. В готовом жидком полуфабрикate контролируют содержание БСА, 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 готового продукта 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. Препарат должен содержать вирус краснухи. Определение проводят в реакции нейтрализации на культуре клеток РК-13. Подлинность вируса краснухи в вакцине устанавливают на основании нейтрализации цитопатогенного действия (ЦПД) вируса краснухи специфической иммунной сывороткой, используя аттестованный стандартный образец антител против вируса краснухи.

Время растворения. Препарат должен растворяться в течение 3 мин при внесении в ампулу воды для инъекций из расчета 0,5 мл на одну дозу. Определение проводят визуально.

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

pH (восстановленного препарата). От 7,0 до 8,0, 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. Определение проводят методом прямого посева или мембранной фильтрации с использованием одной тиогликолевой среды при двух температурных режимах в соответствии с ОФС «Стерильность».

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

Аномальная токсичность. Препарат должен быть нетоксичным. Определение проводят биологическим методом на белых мышах и на

морских свинок обоего пола в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Животным вводят по одной прививочной дозе препарата в объеме 0,5 мл внутривенно, если нет других указаний в нормативной документации.

Специфическая активность. Прививочная доза (0,5 мл) должна содержать не менее 1000 (3,0 lg) ТЦД₅₀ вируса краснухи. Титр вируса определяют в каждой из 5 ампул серии готового продукта отдельно по ЦПД вируса на культуре клеток РК-13. 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 краснухи. 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 ТЦД₅₀/0,1мл, 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 в образцах 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 $8 ^\circ\text{C}$.