**Вакцина гриппозная ФС**

**инактивированная субъединичная**

**адсорбированная, суспензия**

**для внутримышечного введения Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину гриппозную инактивированную субъединичную адсорбированную, суспензию для внутримышечного введения.

Вакцина представляет собой поверхностные гликопротеины (гемагглютинин и нейраминидазу), выделенные из очищенных вирионов вируса гриппа птиц типа А серотипа (Н5N1), культивированные на куриных эмбрионах, сорбированные на алюминия гидроксиде.

В 1 дозе (0,5 мл) вакцины содержится гемагглютинин вируса гриппа птиц типа А серотипа (Н5N1) от 12,8 до 17,2 мкг. В состав препарата входит консервант.

Вакцина вызывает формирование специфического иммунитета и предназначена для специфической профилактики гриппа птиц у людей.

ПРОИЗВОДСТВО

Все этапы производства вакцины гриппозной инактивированной субъединичной адсорбированной, суспензии для внутримышечного введения должны быть валидированы, показатели качества должны гарантировать безопасность ее применения для человека.

Производство вакцины гриппозной инактивированной субъединичной адсорбированной, суспензии для внутримышечного введения состоит из следующих основных этапов:

*Приготовление субстанции (полуфабриката) субъединичной вакцины*

- Приготовление маточного материала (получение актуальных штаммов вируса гриппа, получение куриных эбрионов (КЭ), заражение КЭ для пассажа; сбор и контроль вируссодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) после пассажа, заражение КЭ для получения маточного материала, сбор и (ВАЖ) для маточного материала, сублимационное высушивание маточного материала);

- Получение посевного вируса (приготовление и контроль рабочего разведения посевного вируса);

- Приготовление формалинизированных эритроцитов (приготовление взвеси куриных эритроцитов и их формалинизация);

- Получение вируссодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ) (заражение КЭ, контроль КЭ, сбор и контроль ВАЖ);

- Получение элюата (сорбция вируса, контроль сорбции, элюция вируса и контроль элюата);

- Концентрирование и очистка вируса (концентрирование вируса в градиенте плотности сахарозы);

- Инактивация вируса (разведение концентрата перед инактивацией, инактивация вируса);

- Получение концентрата субъединиц (КСЕ) (определение оптимального соотношения детергент/белок, расщепление разведенного инактивированного концентрата, удаление детергента ультрафильтрацией, стерилизующая фильтрация КСЕ).

ИСПЫТАНИЯ СУБСТАНЦИИ

В субстанции (полуфабрикате) субъединичной вакцины до сорбциипроводят контроль по следующим показателям: подлинность, рН, содержание белка, стерильность, аномальная токсичность, специфическая безопасность, специфическая активность, содержание овальбумина, содержание тетрадецилтри-метиламмония бромид (ТДТАБ), производственные штаммы и содержание консерванта. После проведения сорбции, в субстанции определяют показатель – полнота сорбции.

Показатели: Подлинность, Содержание белка, Специфическая активность, Содержание овальбумина, Содержание тетрадецилтриметиламмония бромид (ТДТАБ) определяют только в субстанции до сорбции и в готовом препарате не определяют. Все остальные показатели качества, указанные выше, приведены в разделе «Испытание готовой формы вакцины».

**Подлинность.** Должна быть специфична, должна взаимодействовать с гомологичной сывороткой и не взаимодействовать с гетерологичными сыворотками вируса гриппа типа А. Определение проводят в РТГА до сорбции препарата. Методика должна быть приведена в нормативной документации.

**Герметизация.** Упаковка должна быть герметична. Определение проводят в соответствии с ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты».

**Специфическая активность.** В 0,5 мл препарата (1 доза) должно содержаться от 12,8 до 17,2 мкг гемагглютинина вируса гриппа птиц типа А серотипа Н5N1. Определение проводят в реакции одиночной радиальной иммунодиффузии (ОРИД) до сорбции. Методика определения должна быть указана в нормативной документации.

**Содержание белка.** Не более 120 мкг/мл. Определение проводят по методу Лоури в соответствии с ОФС «Определение белка колориметрическим методом (метод Лоури) в биологических лекарственных препаратах».

**Содержание овальбумина.** Не более 0,1 мкг/мл. Определение проводят в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с диагностикумом эритроцитарным для РНГА сухим или методом иммуноферментного анализа с «Тест-системой иммуноферментной для определения овальбумина» до сорбции. Методика определения должна быть указана в нормативной документации.

**Содержание тетрадецилтриметиламмония бромид (ТДТАБ).** Не более 10 мкг/мл. Определение проводят до сорбции. Анализ основан на образовании окрашенного комплексаТДТАБ с красителем бромфеноловым синим растворимым в хлороформе. Содержание ТДТАБ вычисляют по калибровочному графику зависимости оптической плотности хлороформа от концентрации ТДТАБ. Методика определения содержания ТДТАБ должна быть указана в нормативной документации.

**Полнота сорбции.** Не более 15 % свободного антигена гемагглютинина. Определение гемагглютинирующей активности проводят титрометрическим методом в субстанции вакцины до сорбции на алюминия гидроксиде. Содержание свободного антигена в процентах вычисляют как отношение гемагглютинирующей активности в надосадочной жидкости вакцины к гемагглютинирующей активности в субстанции (полуфабрикате) вакцины до сорбции.

ИСПЫТАНИЯ ГОТОВОЙ ФОРМЫ ВАКЦИНЫ

Испытания в готовом препарате проводят по следующим показателям: описание, рН, номинальный объем, стерильность, аномальная токсичность, специфическая безопасность, антигенная активность, содержание сорбента, содержание консерванта, полнота сорбции, размер частиц, время седиментационной устойчивости, иммуногенность, реактогенность.

**Описание.** Суспензия белого цвета без посторонних включений, разделяющаяся при отстаивании на прозрачную надосадочную жидкость и рыхлый осадок, полностью разбивающийся при встряхивании. Определение проводят визуально.

**рН.** От 7,0 до 7,6. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Извлекаемый объем.** Должен быть не менее номинального. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

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

**Проходимость через иглу.** Гомогенная взвесь, диспергированная путем встряхивания,должна свободно проходить в шприц через иглу 0,8∙40, если нет иных указаний в нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС «Суспензии».

**Время седиментационной устойчивости.** После встряхивания и получения гомогенной взвеси не должно наблюдаться полного расслаивания в течение 5 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. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным при внутрибрюшинном введении по 0,5 мл белым мышам массой тела 16 -20 г и подкожном введении по 2,0 мл морским свинкам массой тела 250-350 г.

**Специфическая безопасность**. Должен быть безопасным, не должен содержать живых вирусов гриппа. Определение проводят биологическим методом в соответствии с методикой, указанной в нормативной документации.

**Антигенная активность.** Должен вызывать выработку антител у мышей в титре не менее 1:40 к вирусу гриппа птиц типа А серотипа Н5N1 при двукратном внутрибрюшинном введении с интервалом (21±1) сут.

Вакцину вводят 12 беспородным белым мышам массой тела 16 -20 г по 0,5 мл и отбирают сыворотки через (14 ± 1) сут после второго введения вакцины. Для отрицательного контроля используют - 12 беспородных белых мышей массой тела 16 -20 г вводят 0,9 % раствор натрия хлорида и проводят испытания по той же схеме, что и опытной группы. Полученные сыворотки исследуют в РТГА с гомологичным антигеном.

**Иммуногенность.** Препарат при парентеральном введении должен после второй вакцинации на 21-28 сут вызывать прирост гомологичных антител в сыворотке крови в 4 и более раз не менее чем у 50 % вакцинируемых. Повышение среднегеометрических титров антител на 21 – 28 сут после второй вакцинации по сравнению с исходным уровнем, должно составлять величину, не менее 2,5. Двукратную вакцинацию людей проводят с интервалом 28 сут. Испытания проводя методом постановки реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с вирусом гриппа (макрометод), указанным в нормативной документации.

Примечание

Испытания проводят на 3–х первых сериях вакцины, содержащих новый вакцинный штамм по данным исследования в РТГА с лошадиными эритроцитами парных сывороток добровольцев, после предварительной обработки рецептор-разрушающим энзимом (RDE), полученных до иммунизации и через 21-28 сут после нее.

**Реактогенность**. Должен быть ареактогенным. Препарат считают ареактогенным, если средние или сильные местные реакции или наличие температуры выше 37,5 ºС длительностью более 3 сут., будут зарегистрированы менее чем у 3 % привитых. Испытания проводят на трех первых сериях вакцины, содержащих новый вакцинных штамм, методом постановки РТГА с вирусом гриппа (макрометод), указанным в нормативной документации.

**Полнота сорбции.** Не более 15 % свободного антигена гемагглютинина. Определение гемагглютинирующей активности проводят титрометрическим методом в надосадочной жидкости вакцины. Содержание свободного антигена в процентах вычисляют как отношение гемагглютинирующей активности в надосадочной жидкости вакцины к гемагглютинирующей активности в субстанции (полуфабрикате) вакцины до сорбции.

**Консерванты.** Тиомерсал. Концентрация консерванта не должна быть ниже минимально эффективной и не должна превышать указанную на упаковке более чем на 15 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение тиомерсала в биологических 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 биологических лекарственных препаратах».

**Производственные штаммы.** Штаммы вируса гриппа птиц типа А серотипа (Н5N1), рекомендованные ВОЗ или Комиссией по гриппозным вакцинным и диагностическим штаммам. Производственные штаммы должны отвечать следующим основным требованиям: соответствовать по антигенной структуре антигенной разновидности вируса гриппа птиц, адаптированного к куриным эмбрионам; быть бактериологически стерильными, не содержать посторонних вирусов, микоплазм; не должны пассироваться на перевиваемых клеточных линиях; быть специфичными в РТГА и в реакции ингибирования нейраминидазной активности (РИНА) со штаммоспецифической сывороткой против гриппа птиц.

При работе с производственными штаммами необходимо руководствоваться санитарно-эпидемиологическими правилами по безопасности работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности), действующими на территории РФ.

**Упаковка и маркировка**. В соответствии с ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств».

**Транспортирование и хранение.** При температуре от 2 до 8 °С в соответствии с ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Замораживание не допускается.