**Томицид ФС**

**раствор для местного применения,**

 **раствор для наружного применения Взамен ФС 42-32ВС-87**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на препарат томицид, раствор для местного применения, раствор для наружного применения, представляющий собой стерильный продукт метаболизма непатогенного стрептококка *Streptococcus sp. TOM-1606.* Активным веществом препарата является бактериоциноподобное вещество, обладающее бактерицидным действием в отношении грамположительных кокков.

Препарат предназначен для лечения ангин, пиодермий, гнойных ран и профилактики нагноения послеоперационных ран. Препарат проявляет антибактериальную активность в отношении штамма *Micrococcus luteus 2665* в титре не ниже 1:256.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство препарата томицида, раствора для местного применения, раствора для наружного применения основано на культивировании производственного штамма *Streptococcus sp. TOM-1606* в жидкой питательной среде.

В процессе производства штамм продуцент *Streptococcus sp. TOM-1606* многократно пассируют на жидкой питательной среде для получения маточной культуры, которую культивируют в течение 48 ч при температуре 28º С. В процессе культивирования, бактерии производственного штамма выделяют в среду бактериоциноподобное вещество. По истечении времени из культуральной среды удаляют бактериальную массу и среду подвергают стерилизующей фильтрации.

На всех этапах культивирования производственного штамма *Streptococcus sp. TOM-1606* проводится контроль маточной культуры, рН среды, активности препарата.

Все этапы производства должны осуществляться с соблюдением надлежащих требований организации производства и контроля качества лекарственных средств, а также в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», действующими на территории РФ и в соответствии с ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты».

ИСПЫТАНИЕ

**Описание.** Прозрачная жидкость светло-коричневого цвета со специфическим запахом. Определяют органолептическим методом.

**Подлинность.** Должен подавлять рост микроорганизмов тест-штамма *M. luteus 2665*. Определение см. раздел «Специфическая активность».

**Прозрачность.** Раствор должен быть прозрачным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Окраска должна соответствовать эталонам оттенков № 5- 7В

**рН.** От 4,0 до 5,0. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Общий азот.** От 3 до 5 мг/мл. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение общего азота с реактивом Несслера в биологических лекарственных препаратах».

**Извлекаемый объем.** Должен быть не менее номинального. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем».

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Испытание проводят на 5 здоровых белых мышах обоего пола массой, 19-21 г, которые ранее не использовались в экспериментах. Каждому животному внутрибрюшинно вводят по 0,5 мл испытуемого препарата. Препарат считают выдержавшим испытание, если в течение всего срока наблюдения не погибнет ни одно подопытное животное.

**Специфическая активность.** Должен подавлять рост тест-штамма *M. luteus 2665*. Титр препарата - наибольшее разведение, при котором проявляется его антибактериальная активность - должен быть не ниже 1:256.

Для определения специфической активности томицида среду для титрования разливают по 3 мл в 11 пробирок вместимостью 15 мл. В первую пробирку вносят 3 мл томицида и перемешивают пипеткой не менее 10 раз. Затем проводят серию 2-кратных разведений, меняя пипетки после каждого разведения. В каждую побирку с полученными разведениями томицида добавляют по 0,2 мл бактериальной взвеси тест-штамма *M. luteus 2665*. Бактериальную взвесь готовят путем смыва тест-штамма 0,9 % раствором натрия хлорида со скошенного агара. Для приготовления бактериальной взвеси тест-штамм *M. luteus 2665* культивируютна питательной среде при температуре 37º С в течение 18-22 ч. Концентрация бактерий должна соответствовать 5 единицам стандартного образца (СО) мутности.

Для контроля роста тест-штамма 0,2 мл бактериальной взвеси *M. luteus 2665,* соответствующую 5 единицам СО мутности,засевают в 3 мл среды для титрования. Учет результатов проводят через 18-22 ч после инкубации при температуре 37º С.

Титр томицида устанавливают по пробирке с наивысшим разведением препарата, в котором визуально отмечают отсутствие роста тест-штамма. В 1 и 2 пробирках возможно неспецифическое помутнение за счет высокой кислотности препарата. При титре препарата ниже 1:256 определение проводят на удвоенном количестве образцов. Если тир повторно оказывается ниже 1:256, то серию бракуют.

Примечания

Приготовление среды для культивирования штамма (на 1 л). Пептический гидролизат мяса (говядина 1 категории) -500 мл; мясная вода разведенная 1:2 питьевой водой - 500 мл; натрий уксусно-кислый трехводный - 5 г; уксусная кислота ледяная - 1 мл; глюкоза безводная - 1 г; агар микробиологический - 15 г; рН после стерилизации - 7,7 ± 0,1.

Приготовление среды для титрования (на 1 л). Пептический гидролизат мяса (говядина 1 категории) -100 мл; мясная вода - 160 мл; уксусная кислота ледяная - 1 мл; глюкоза безводная - 1 г; натрий хлористый - 3 г; вода питьевая -740 мл; рН после стерилизации - 7,4 ± 0,1.

**Производственные штаммы и штаммы для контроля.** При изготовлении препарата томицида, раствора для местного применения, раствора для наружного применения используют штамм продуцент *Streptococcus sp. TOM-1606.* Производственный штамм должен иметь паспорт, в котором указаны: история выделения, морфологические, тинкториальные, культуральные свойства, видовая идентификация и биохимические свойства. Штамм должен иметь стабильные генетические и биологические свойства и регулярно контролироваться.

Бактерии штамма должны представлять собой грамположительный диплококк, иногда образующий цепочки. Штамм продуцент не должен обладать гемолитическими свойствами, должен быть нетоксичным для белых мышей при внутрибрюшинном введении 1 млрд. клеток. Должен обладать антагонистическими свойствами в отношении тест-штамма *M. luteus 2665*, образуя зону задержки роста (10 ± 2) мм.

Для определения антагонистических свойств 24 часовую культуру штамма продуцента засевают уколом в центр чашки Петри с 1,5 % агаризованной средой и инкубируют 24 ч при температуре 37º С. Затем в чашку с выросшей колонией штамма продуцента вносят тест-штамм в концентрации 1010 КОЕ/мл в слое 0,7 % агаризованной среды. Появление зоны задержки роста тест-штамма после инкубирования в течение 24 ч при температуре 37º С свидетельствует о способности штамма продуцента синтезировать томицид.

Тест-штамм *M. luteus 2665* представляет собой грамположительный кокк. Бактерии штамма *M. luteus 2665* в мазках располагаются хаотично, в жидкой питательной среде дают диффузный рост, на плотной - образуют серовато-желтые колонии.

Производственный штамм и тест-штамм для контроля должны быть депонированы в официальной коллекции микроорганизмов.

Производственные штаммы хранятся на производстве в рабочих коллекциях с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил, действующих на территории РФ.

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Лекарственные формы» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». В маркировке должна быть предусмотрена предупредительная надпись «При помутнении не применять».

**Транспортирование и хранение.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». В защищенном от света месте, при температуре от 2 до 10 оС, в условиях, исключающих замораживание.