Анатоксин столбнячный ФС

очищенный концентрированный

жидкий (ОКСА) Вводится впервые

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию анатоксина столбнячного очищенного концентрированного жидкого (ОКСА), которая представляет собой столбнячный анатоксин, полученный из столбнячного экзотоксина путем обезвреживания формальдегидом при нагревании, предназначенный для производства сорбированных препаратов, комбинированных вакцин и анатоксинов, содержащих столбнячный компонент.

ПРОИЗВОДСТВО

Все этапы производства субстанции анатоксина столбнячного очищенного концентрированного жидкого (ОКСА) должны быть валидированы с целью подтверждения установленных требований, гарантирующих безопасность ее применения.

При производстве субстанции столбнячного анатоксина используют штамм *Clostridium tetani*, полученный и депонированный 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. 1 мл субстанции столбнячного очищенного концентрированного анатоксина должен содержать не менее 200 ЕС (единиц связывания) или не менее 200 Lf столбнячного анатоксина и не более 1 мг формальдегида.

Примечание

За 1 ЕС принимают количество столбнячного анатоксина, которое связывает 1 МЕ (международную единицу) активности противостолбнячной сыворотки.

За флокулирующую единицу (Lf) принимается такое количество токсина/анатоксина, которое вступает в реакцию инициальной флокуляции с 1 МЕ соответствующей антитоксической сыворотки сыворотки для флокуляции.

*Определение специфической безопасности субстанции столбнячного анатоксина очищенного концентрированного жидкого (ОКСА)*

Испытание проводят на 5 морских свинках массой 250−350 г, которым вводят подкожно по половине дозы не менее 1500 ЕC (суммарно в бок и внутреннюю поверхность верхней трети бедра) столбнячного анатоксина.

Анатоксин считается безопасным, если в течение 21 сут наблюдения все животные остаются живыми и в течение указанного периода у них не наблюдаются потери в массе тела, параличи, некрозы, изъявления и другие местные патологические явления. Если наблюдается гибель хотя бы одного животного, опыт повторяют на удвоенном количестве животных при тех же условиях. Если при повторном испытании устанавливают гибель более 1 животного, столбнячный анатоксин испытание не проходит.

*Реверсия токсичности ОКСА****.*** Два образца субстанции столбнячного анатоксина разводят в 0,9 % стерильном растворе натрия хлорида до 20 ЕС/мл. Полученный раствор делят на 2 части и выдерживают в течение 42 сут: первый − при температуре (37 ± 1) ºС, второй− при температуре от 2 до 8 ºС. Каждый образец вводят подкожно 5 морским свинкам массой 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 субстанции столбнячного анатоксина можно использовать только стерильный и безопасный столбнячный анатоксин со специфической (антигенной) активностью не ниже 200 ЕС/Lf в 1 мл и антигенной чистотой не менее 1000 ЕС (или 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.

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость от светло – желтого до желтовато - коричневого цвета. Испытания проводят визуально в проходящем свете.

**Подлинность.** Должна вступать в реакцию антитоксинсвязывания с противостолбнячной сывороткой. Определение проводят в реакции антитоксинсвязывания (раздел «Специфическая активность»). В нормативной документации могут быть указаны альтернативные методы, подтверждающие наличие в лекарственном средстве столбнячного анатоксина, обладающего антигенной активностью.

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

**рН.** От 6,8 до 7,6. Испытания проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Общий азот.** Не менее 0,15 мг/мл. Определение проводят колориметрическим методом в соответствии с ОФС «Определение общего азота с реактивом Несслера в биологических лекарственных препаратах» или в соответствии с ОФС « Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля» (обратное титрование).

**Белковый азот.** Не менее 0,15 мг/мл. Определение проводят в соответствии с ОФС « Определение белкового азота с реактивом Несслера с предварительным осаждением белкового материала» или в соответствии с ОФС « Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля» (обратное титрование).

**Стерильность.** Должна быть стерильной. Испытания проводят методами прямого посева или мембранной фильтрации в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Специфическая безопасность**. Должна быть безопасным при подкожном введении 5 морским свинкам массой (300 ± 50) г, которым вводят подкожно по 2,5 мл в бок и бедро в общей дозе не менее 1500 ЕС или 1500 Lf. Cрок наблюдения 21 сут. В течение указанного времени все животные должны оставаться живыми, без симптомов столбняка и потери массы тела. Допускаются небольшие инфильтраты в течение первой недели наблюдений. В случае гибели 1 животного или потери массы тела хотя бы одним из животных от неспецифических причин испытание повторяют. Если при повторном испытании установлена гибель более 1 животного, субстанцию считают не соответствующим требованиям.

**Реверсия токсичности**. Должна отсутствовать. Субстанцию разводят стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида до 20 ЕС/мл, делят на 2 образца и выдерживают в течение 42 сут: первый – при температуре (37±1) ºС; второй – при температуре (5±3) ºС. Каждый образец проверяют на реверсию токсичности путем подкожного введения 5 морским свинкам массой 250 – 350 г в объеме 5 мл (по 2,5 мл в оба бока). За животными наблюдают ежедневно в течение 21 сут после инъекции. Ни у одного животного не должно наблюдаться признаков столбняка в течение всего периода наблюдения.

**Специфическая активность.** Должна обладать специфической активностью и содержать в 1 мл не менее 200 ЕС или не менее 200 Lf. Определение проводят в реакции антитоксинсвязывания с референс – препаратом активности противостолбнячной сыворотки, калиброванным в МЕ в соответствии с ОФС Определение содержания антитоксинов в реакции антитоксисвязывания» или в реакции флокуляции с референц-препаратом активности противостолбнячной сыворотки в соответствии с ОФС «Определение содержания анатоксинов/токсинов в реакции флокуляции».

**Удельная активность**. Не менее 1000 ЕС/мг или Lf/мг белкового азота. Удельную активность (Х) ЕС/мг или Lf/мг вычисляют по формуле:

Т/N,

где: Т- специфическая активность ЕС/мг или Lf/мг;

N- количество белкового азота, мг/мл

**Формальдегид.** Не более 1 мг/мл. Определение проводятколориметрическим методом в соответствии с ОФС «Количественное определение формальдегида в биологических лекарственных препаратах».

**Производственные штаммы микроорганизмов.** Штамм *Clostridium tetani№ 471(Copenhagen) или Cl. tetani № 228* адаптируют к производственным питательным средам и хранят в запаянных пробирках на среде Китт-тароции или в лиофильно высушенном состоянии в ампулах при температуре от 2 до 8º С. При культивировании на питетельных средах штаммы должны образовывать токсин, содержащий не менее 100000 Dlm/мл.При необходимости допускается включение дополнительной информации к паспортным данным и требования к характеристикам штамма.

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

**Транспортирование и хранение.** В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 2 до 8 °С, не допуская замораживания.