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

Микст-аллерген из пыльцы деревьев ФС

для диагностики и лечения,

раствор для накожного

скарификационного нанесения,

раствор для внутрикожного введения,

 раствор для подкожного введения Взамен ВФС 42-346ВС-92

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

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на микст-аллерген из пыльцы деревьев - березы висячей, дуба черешчатого, клена ясенелистного, орешника (лещины обыкновенной), ольхи клейкой, ясеня обыкновенного, - для диагностики и лечения, раствор для накожного скарификационного нанесения, раствор для внутрикожного введения, раствор для подкожного введения. Препарат представляет собой водно-солевой экстракт белково-полисахаридных комплексов, выделенных из пыльцы вышеперечисленных деревьев экстрагированием фосфатно-солевым буферным раствором. Действующим веществом препарата являются аллергены из пыльцы деревьев березы висячей, дуба черешчатого, клена ясенелистного, орешника (лещины обыкновенной), ольхи клейкой, ясеня обыкновенного, в 1 мл содержится 10000 PNU.

 Препарат выпускается в комплекте с тест-контрольной жидкостью, предназначенной для контроля при постановке кожных проб с микст-аллергеном и разводящей жидкостью, предназначенной для приготовления различных разведений препарата, применяемых для иммунотерапии. Препарат предназначен для специфической диагностики и специфической иммунотерпапии аллергических заболеваний, обусловленных пыльцой березы висячей, дуба черешчатого, клена ясенелистного, орешника (лещины обыкновенной), ольхи клейкой, ясеня обыкновенного.

 В состав препарата входит консервант.

ПРОИЗВОДСТВО

 Микст-аллерген из пыльцы деревьев готовят из стерильного маточного водно-солевого экстракта пыльцы березы висячей (*Betula pendula*), дуба черешчатого (*Quercus robur*), клена ясенелистного (Ac*er negundo),* ольхи клейкой (*Alnus glutinosa),* орешника (лещины обыкновенной) *(Corylus avellana),* ясеня обыкновенного *(Fraxinus excelsior)* и фосфатно-солевого буферного раствора. Сырьем для изготовления препарата служит пыльца вышеуказанных деревьев, собранная в период цветения.

 Пыльца представляет собой порошкообразную массу от светло-желтого до интенсивно желтого цвета. Пыльца каждого вида растения должна быть морфологически однородной, допускается примесь пыльцы растений других видов не более 10 % (контролируют с помощью световой микроскопии). Пыльца каждого вида растения должна обладать характерными признаками (см. таблицу1).

 Созревание пыльцы происходит в специально оборудованных помещениях - поллинариях. После сбора пыльца подвергается высушиванию до остаточной влажности не более 3 % (определение проводится в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании»).

 Пыльцу хранят в герметично закрытых стеклянных емкостях с притертыми пробками, завальцованными парафином, отдельно для каждого вида пыльцы, в холодильных шкафах при температуре 4º С.Условия сбора, предварительная обработка, условия хранения исходных материалов должны обеспечивать постоянный качественный и количественный состав и стандартность в максимально возможной степени.

 Растительная пыльца должна выдерживать требования по микробиологической чистоте в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

 Зараженность сырья амбарными вредителями не должна превышать I степени, определение проводят в соответствии с ОФС «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

 Содержание тяжелых металлов в сульфатной золе из 1 г пыльцы (точная навеска) не должно превышать 0,001%. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Таблица 1. Характеристика видов пыльцы деревьев

|  |  |
| --- | --- |
| Наименование вида пыльцы | Морфологические признаки |
| береза висячая | пыльцевые зерна округло-треугольной или многоугольной формы; экзина толстая; имеются арки; скульптура зернистая или угловато-морщинистая, пора имеет камеру; количество пор равно количеству углов. |
| дуб черешчатый | пыльцевые зерна 3-бороздные, в полярной проекции округло-лопастные, с лопастями, загнутыми к бороздам, 22,5-50·23-44 мкм; экзина четко двухслойная, оба слоя по толщине равны, граница между слоями иногда волнистая; скульптура мелкобугорчатая, тесктура ячеистая или ямчатая, бороздная; мембрана гладкая. |
| ольха клейкая | пыльцевые зерна 4(5)-поровые, сплющенные; поры экваториальные с ободком; арки заметны слабо; текстура мелкопятнистая, покров толстый. |
| клен ясенелистный | пыльцевые зерна 3(4)-бороздные, эллипсоидальные, иногда почти шаровидные, с полюса трехлопастные, 27,2 мкм; борозды длинные, заостренные, до полюсов не доходят; мембрана зернистая; экзина2-слойная; текстура точечно-пятнистая, местами струйчатая; в набухшем состоянии мембрана борозд выбухает наружу. |
| орешник (лещина обыкновенная) | пыльцевые зерна буроватые, 3-поровые, сплющенные, 24,2 мкм; поры крупные приподнимающиеся; текстура пятнистая; скульптура выражена слабо; интина в области пор вогнута (образует линзу). |
| ясень обыкновенный | пыльцевые зерна меридионально-3-бороздно-апертурные, почти сплющенные,17,5·22 мкм; сэкзина толще нэкзины, сетчатая; перегородки прямые или слабо изогнуты. |

 После предварительной обработки подготовленную пыльцу деревьев березы висячей, дуба черешчатого, ольхи клейкой, клена ясенелистного, ясеня обыкновенного, орешника (лещины обыкновенной) смешивают в равных пропорциях и экстрагируют из полученной смеси белково-полисахаридные комплексы водно-солевым буферным раствором. Экстрагированный материал подвергают дополнительной очистке с помощью диализа, концентрирования, центрифугирования и стерилизующей фильтрации. В результате получают стабильный маточный раствор микст-аллергена. После проведения контрольных испытаний, полуфабрикат разводят до конечных концентраций белкового азота.

 Технология производства микст-аллергена из пыльцы деревьев должна обеспечивать эффективность, стабильность, безопасность его применения и соответствовать требованиям ОФС «Аллергены».

ИСПЫТАНИЯ

 **Описание.** Прозрачная жидкость от желтого до коричневого цвета. Определение проводят визуально.

 **Подлинность.** Препарат считается подлинным, если в нем выявляются специфические аллергенные компоненты. Определение проводят методом иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с ОФС «Определение подлинности аллергенов».

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

 **Цветность.** Окраска испытуемого раствора микст-аллергена должна соответствовать эталонам оттенков № 3- 5Y или № 2- 5В жидкости. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

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

 **pH.** От 6,5 до 7,3. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

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

 **Белковый азот.** От 7500 до 12500 PNU/мл. Определение проводят колориметрическим методом в соответствии с ОФС «Определение белкового азота с реактивом Несслера с предварительным осаждением белкового материала в биологических лекарственных препаратах».

 **Стерильность.** Препарат должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методами прямого посева или мембранной фильтрации.

 **Аномальная токсичность**. Препарат должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Испытания проводят путем внутрибрюшинного введения по 0,5 мл 5 белым мышам массой 18-20 г и подкожного введения по 0,1 мл двум морским свинкам массой 250-300 г, если нет других указаний в нормативной документации. Период наблюдения за животными составляет 7 сут.

 **Специфическая активность.** Препарат должен вызывать специфическую кожную аллергическую реакцию в виде гиперемии и волдыря у лиц, имеющих в анамнезе повышенную чувствительность к пыльце деревьев березы висячей, дуба черешчатого, клена ясенелистного, ольхи клейкой, ясеня обыкновенного, орешника (лещины обыкновенной):. Определение проводят методом постановки кожных проб (скарификация или прик-тест) у пациентов от 18 до 50 лет в период ремиссии аллергического заболевания.

 Микст-аллерген считают специфически активным при наличии положительных кожных проб не менее, чем у трех из пяти лиц, имеющих соответствующую сенсибилизацию и при отсутствии кожной реакции в контрольной группе. При регистрации положительных реакций у меньшего количества проводят дополнительное исследование на удвоенном количестве больных. Положительные реакции должны быть зарегистрированы не менее чем у 5 пациентов из 10.

 Препарат бракуют, если положительные реакции кожи зарегистрированы менее, чем у 5 человек из 10 и/или если выявлена хотя бы одна положительная реакция кожи у лиц контрольной группы.

 Если у одного из пяти человек контрольной группы выявлена положительная кожная реакция, то исследование повторяют на контрольной группе из пяти лиц не чувствительных к растительной пыльце. Если выявляют положительную реакцию - микст-аллерген бракуют.

 Одновременно проводят постановку кожных проб с тест-контрольной жидкостью для микст-аллергена и с 0,01 % раствором гистамина. Приготовление 0,01 % раствора гистамина должно быть приведено в нормативной документации.

 Примечание

 Приготовление 0,01 % раствора гистамина. К одной части 0,1 % раствора гистамина дигидрохлорида прибавляют 9 частей 0,9 % раствора натрия хлорида для инъекций и перемешивают. Раствор годен в течение 6 ч с момента его приготовления.

 Реакция кожи на тест-контрольную жидкость должна быть отрицательной. При положительной реакции пробы с микст-аллергеном не учитывают.

 Реакция кожи на гистамин должна быть положительной. При отрицательной реакции кожи на гистамин пробы с микст-аллергеном не учитывают. Реакции кожи немедленного типа учитывают через 15-20 мин и регистрируют согласно прилагаемой схеме (см таблицу 2). При учете реакции кожи размеры волдыря следует измерять масштабной линейкой.

Таблица 2 Схема учета скарификационных кожных проб и прик-тестов

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Оценка реакции | Степень выраженности реакции | Размеры и характер реакции |
| Отрицательная | - | Отсутствие волдыря (папулы), гиперемия с размерами как в контроле с тест-контрольной жидкостью |
| Положительная  | «+» | Волдырь (папула) 2-3 мм, заметен только при натягивании кожи, гиперемия  |
| Положительная | «++» | Волдырь (папула) 4-5 мм, гиперемия  |
| Положительная  | «+++» | Волдырь (папула) 6-10 мм, гиперемия или волдырь 6-10 мм с псевдоподиями |
| Положительная  | «++++» | Волдырь (папула) более 10 мм, гиперемия или волдырь (папула) более 10 мм с псевдоподиями, гиперемия  |

 Специфическая активность препарата может быть определена в соответствии с ОФС «Определение подлинности препаратов аллергенов» (см. раздел «Подлинность»).

 **Фенол.** От 0,2 до 0,4 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах».

 **Тест-контрольная жидкость.** Представляет собойфосфатно-солевой буферный раствор, рН от 6,8 до 7,2. Прозрачная бесцветная жидкость. Проводят испытания по показателям: механические включения, рН, извлекаемый объем, фенол, стерильность, аномальная токсичность, аналогично испытаниям, как для основного препарата.

 **Разводящая жидкость.** Фосфатно-солевой буферный раствор (рН от 6,8 до 7,2), содержащий полисорбат-80 предотвращающий адсорбцию микст- аллергена на стекле флакона. Представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, подвергается испытаниям по показателям механические включения, рН, извлекаемый объем, фенол, стерильность, аномальная токсичность, аналогично испытаниям, как для основного препарата.

 **Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Лекарственные формы» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств».

 **Транспортирование и хранение.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 ºС. Замораживание не допускается.