**Лизаты актиномицетов ФС**

***Actinomyces + Micromonospora*,**

**раствор для внутримышечного**

**введения Взамен ФС 42-3735-99**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на препарат лизаты актиномицетов *Actinomyces + Micromonospora*, раствор для внутримышечного введения. Препарат представляет собой смесь равных количеств культуральной жидкости самопроизвольно лизирующихся актиномицетов родов *Actinomyces* и *Micromonospora*, очищенную методом мембранной фильтрации.

Действующим веществом препарата являются продукты лизиса, преимущественно фрагменты пептидов клеточных стенок актиномицетов родов *Actinomyces* и *Micromonospora*. Фрагменты пептидов клеточных стенок представляют собой патоген-ассоциированные паттерны, связывающиеся с *Toll*-подобными рецепторами клеток макрофагально-моноцитарного ряда и инициирующие каскад реакций, приводящих к активации клеточного и гуморального иммунитета. В 1 мл препарата содержится лизат актиномицетов рода *Actinomyces* 0,5 мл, актиномицетов рода *Micromonospora* - 0,5 мл.

Препарат предназначен для лечения актиномикоза и хронических гнойных заболеваний.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство препарата лизатов актиномицетов *Actinomyces + Micromonospora*, раствор для внутримышечного введения, основано на культивировании производственных штаммов актиномицетов родов *Actinomyces* и *Micromonospora*, выделенных от больных актиномикозом из очагов поражения и депонированных в официальной коллекции.

Производственные штаммы актиномицетов культивируют в течение 1,5 -2 мес при температуре 37 ºС на специальных жидких питательных средах, в условиях, обеспечивающих к моменту окончания культивирования самопроизвольное лизирование бактерий. Лизаты, полученный таким образом, очищают от высокомолекулярных соединений (более 15000Да) путем мембранной фильтрации.

Производственные штаммы актиномицетов должны иметь паспорт, в котором указаны: история выделения, морфологические, тинкториальные и культуральные свойства, видовая идентификация, биохимические свойства. Штаммы должны иметь стабильные генетические и биологические свойства и регулярно контролироваться. 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».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачный раствор от желтовато-коричневого до коричневого цвета. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Должен вызывать гиперчувствительность замедленного типа у сенсибилизированных морских свинок. Определение проводят, методом кожно-аллергических проб по разделу «Специфическая активность».

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

**рН.** От 7,8 до 8,2. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Белок.** От 10,5 до 12,5 мг/мл. Определение проводят колориметрическим методом в соответствии с ОФС «Определение белка колориметрическим методом (метод Лоури) в биологических лекарственных препаратах».

**Глюкоза.** От 1,2 до 2,2 мг/мл. Испытуемый образец разводят до концентрации 0,1-0,8 мг/мл, определение проводят спектрофотометрическим методом, в соответствии с ОФС «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» (метод определения с пикриновой кислотой) или другим валидированным методом, указанным в нормативной документации.

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

**Стерильность.** Должен быть стерильным.Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом прямого посева. Препарат в условиях испытания не обладает антимикробным действием. Для проведения испытания от каждой серии препарата обирают не менее 1 % ампул.

**Пирогенность.** Должен быть апирогенным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность».

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Препарат в дозе 0,1 мл вводят внутрибрюшинно 5 белым мышам массой 19-21 г. Период наблюдения за животными составляет 7 сут. В течение всего срока наблюдения у животных на месте введения препарата должны отсутствовать проявления местной реакции (гиперемия, инфильтрат) или изменения физиологического состояния.

**Специфическая активность.** Должен вызывать гиперчувствительность замедленного типа у сенсибилизированных морских свинок. В месте внутрикожного введения препарата, должен образоваться инфильтрата (папула) диаметром 2-5 мм и гиперемия.

Определение проводят методом кожно-аллергических проб на 5 морских свинках массой 180-200 г. Трех из них подвергают сенсибилизации, а двух оставляют интактными. Животных сенсибилизируют путем трехкратного, с интервалом 3-4 дня, подкожного введения смеси суспензии инактивированных актиномицетов со стерильным неполным адъювантом Фрейнда, в дозе 0,1 мл.

Через 17 дней после введения суспензии инактивированных актиномицетов со стерильным неполным адъювантом Фрейнда, всем животным вводят внутрикожно по 0,1 мл препарата. Через 24 часа у сенсибилизированных животных, не мене чем у двух, должна развиться кожная аллергическая в виде инфильтрата (папулы) диаметром 2-5 мм и гиперемии. У несенсибилизированных животных в месте введения препарата кожная аллергическая реакция должна отсутствовать. Реакцию оценивают по прилагаемой схеме (табл.).

Таблица - Схема учета кожной аллергической реакции у морских свинок, сенсибилизированных инактивированными актиномицетами

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Оценка реакции | | Размеры и характер реакции |
| Отрицательная | - | Отсутствие инфильтрата (папулы) и гиперемии |
| Сомнительная | ± | Гиперемия и инфильтрат (папула) < 2 мм |
| Положительная | «+» | Гиперемия и инфильтрат (папула) 2-3 мм |
| Положительная | «++» | Гиперемия и инфильтрат (папула) 3-4 мм |
| Положительная | «+++» | Гиперемия и инфильтрат (папула) 4-5 мм |

Примечания

Приготовление суспензии актиномицетов для сенсибилизации животных. 20 мг смеси биомассы актиномицетов производственных штаммов инактивируют автоклавированием при температуре 120 ºС в течение 30 мин и суспендируют в 1 мл воды для инъекций. Полученную суспензию смешивают со стерильным неполным адъювантом Фрейнда в соотношении 1:1.

Приготовление неполного адъюванта Фрейнда. 1 часть ланолина смешивают с 2 частями вазелина и стерилизуют (условия стерилизации должны быть указаны в нормативной документации).

**Производственные штаммы.** При изготовлении препарата лизатов актиномицетов *Actinomyces + Micromonospora*, раствор для внутримышечного введения, используют 5 штаммов актиномицетов, выделенных из очагов поражения больных актиномикозом людей. Штаммы Р/3.88 и Л/1.89 относятся к виду *Actinomyces albus*, а штаммы - С/6.86, П/5.86, Т/1.92 - к виду *Micromonospora monospora*. Штаммы, использованные для изготовления препарата должны обладать типичными морфологическими, тинкториальными, культуральными и биохимическими свойствами. На 5-6 сут культивирования на плотных и жидких питательных средах штаммы должны формировать колонии характерного вида для актиномицетов.

Коллекция производственных штаммов должна регулярно обновляться (объем обновляемых штаммов и регулярность обновления должны быть указаны в нормативной документации).

Штаммы для идентификации. В качестве образца сравнения используют музейные стандартные образцы предприятия (СОП) штаммов актиномицетов *A. аlbus* и *M. monospora.* Самопроизвольный лизис культуры *A. аlbus* в мясо-пептонном бульоне должен происходить на 12-14 сут культивирования, не менее, чем на 25 %, а культуры *M. monospora* - на 60-70 %.

Производственные штаммы актиномицетов и СОП должны храниться на производстве в рабочих коллекциях с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил, действующих на территории РФ.

Производственные штаммы должны подвергаться регулярному контролю, его периодичность должна быть указана в нормативной документации.

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

**Транспортирование** и **хранение.** В защищенном от света месте, при температуре от 4 до 8 оС в соответствии с ОФС «Лекарственные формы» и ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Допускается транспортирование при температуре от 4 до 25оС в течение сут.