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

**Антиген вируса гриппа ФС**

**серотипа А (H1N1), субстанция Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию антигена вируса гриппа серотипа А (H1N1). Субстанция представляет собой поверхностные гликопротеины (гемагглютинин и нейраминидазу), выделенные из очищенных вирионов вируса гриппа типа А подтипа H1N1, полученных из вируссодержащей аллантоисной жидкости куриных эмбрионов.

Субстанция предназначена для производства готовых лекарственных средств, применяющихся для специфической профилактики гриппа.

В состав субстанции входят вспомогательные вещества, в том числе могут быть включены консерванты.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство субстанции включает стадии получения посевного вирусного материала (не более 15 пассажей штамма), выращивания вируса гриппа типа А подтипа H1N1 в развивающихся куриных эмбрионах, инактивирования, концентрирования и очистки вируса, выделения из очищенных вирионов вируса поверхностных антигенов (гемагглютинина и нейраминидазы) и разведения антигенов в фосфатно-солевом буферном растворе (рН 7,2 ± 0,2) до стандартной концентрации.

В процессе производства должен проводиться контроль содержания соответствующих химических веществ, вносимых в препарат и используемых для инактивации вируса, его разрушения и в качестве вспомогательных веществ.

Производственные штаммы. Штамм должен соответствовать по антигенной структуре штамму вируса гриппа типа А подтипа H1N1,ежегодно меняющемуся в соответствии с рекомендациями по гриппозным вакцинным и диагностическим штаммам, действующими на территории Российской Федерации.

При работе с производственными штаммами необходимо руководствоваться санитарными правилами по безопасности работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и возбудителями паразитарных болезней, а также требованиями, указанными в ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты» и ОФС «Вакцины и анатоксины».

Субстанция должна производиться в соответствии с требованиями [правил надлежащей производственной практики](http://docs.cntd.ru/document/499029882) и контроля качества биотехнологических лекарственных препаратов. Производство субстанции должно осуществляться с соблюдением требований, указанных в ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты», ОФС «Иммуно-биологические лекарственные препараты», ОФС «Вакцины и анатоксины», ОФС «Испытание вирусных вакцин на присутствие посторонних агентов» и ОФС «Фармацевтические субстанции».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Бесцветная или слегка желтоватая, прозрачная или слабо опалесцирующая жидкость. Определение проводят визуальным методом.

**Подлинность.** Подтверждается специфичностью гемагглютинина в реакциях торможения гемагглютинации (РТГА) и специфичностью нейраминидазы в реакциях ингибирования нейраминидазной активности (РИНА).

Антиген гемагглютинина должен нейтрализоваться гомологичной сывороткой. Титр с гетерологичной сывороткой должен быть ниже ее собственного титра не менее чем в 4 раза. Определение проводят с «Сывороткой диагностической гриппозной сухой для РТГА» или с другими сыворотками аналогичного качества. Допускается применение аналогичных сывороток, не уступающих по характеристикам выше указанным.

Ферментативная активность нейраминидазы должна ингибироваться гомологичной сывороткой к нейраминидазе и не ингибироваться или слабо ингибироваться гетерологичными сыворотками. В качестве субстрата используется фетуин. Определение проводят с гомологичной и гетерологичными сыворотками, разрешенными к применению в практике здравоохранения Российской Федерации.

Контроль специфичности нейраминидазы проводят на первых трех сериях субстанции, приготовленных с использованием нового штамма. Допускается проведение контроля на цельном вирусе, который берется для исследования, при концентрации общего белка 500 мкг/мл.

Прозрачность. Не должна превышать эталон сравнения II (при концентрации гемагглютинина 1,5 мкг/мл). Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Интенсивность окраски раствора субстанции не должна быть более эталона Y5 (при концентрации гемагглютинина 1,5 мкг/мл). Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**pH.** От 6,9 до 7,6. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Механические включения. Должна выдерживать требования по содержанию видимых механических включений в соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах». Испытание проводят визуально.

Белок. Не более 240 мкг (не включая гемагглютинин) на 100 мкг гемагглютинина. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение белка» или другим валидированным методом, указанным в нормативной документации.

**Чистота поверхностных антигенов**.В исследуемом образце субстанции в основном должен присутствовать гемагглютинин, а также нейраминидаза. Определение проводят методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле с натрия лаурилсульфатом в соответствии с ОФС «Электрофорез в полиакриламидном геле».

Образец субстанции антигена вируса гриппа исследуют совместно с образцом концентрированного очищенного вируса гриппа соответствующего типа и штамма.

Стерильность. Субстанция должна быть стерильной. Определение проводят методом прямого посева или мембранной фильтрации в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 200 ЕЭ на 100 мкг гемагглютинина. Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

Специфическая безопасность. Субстанция не должна содержать живого вируса гриппа. Определение проводят путем заражения 10 куриных эмбрионов (10-, 12-дневных) путем введения в аллантоисную полость 0,2 мл субстанции. Через 48 ч инкубации эмбрионов при температуре 35-37 °С (не менее 7 из 10 эмбрионов должны остаться живыми) аллантоисную жидкость проверяют на наличие гемагглютинина (с 1 % суспензией эритроцитов петухов). Из каждого эмбриона отбирают по 0,5 мл аллантоисной жидкости, объединяя жидкости от всех групп. Затем заражают 10 эмбрионов неразведенной смесью аллантоисной жидкости (по 0,2 мл). Эмбрионы инкубируют при тех же условиях, после чего определяют наличие гемагглютинина в аллантоисной жидкости после второго пассажа. Результаты реакции должны быть отрицательными. В противном случае допускается проведение третьего пассажа. Результаты реакции после третьего пассажа должны быть отрицательными.

Специфическая активность. Содержание гемагглютинина должно составлять от 40 до 300 мкг/мл. Определение проводят в реакции одиночной радиальной иммунодиффузии (ОРИД) с использованием стандартного антигена и стандартной сыворотки соответствующего штамма.

Тиомерсал. От 85 до 115 мкг/мл (при наличии консерванта). Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение тиомерсала в биологических лекарственных препаратах».

**Посторонние примеси (овальбумин).** Определение проводят методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с ОФС «Метод иммуноферментного анализа». Для проведения испытаний используют готовые наборы реагентов, разрешенные к применению в практике здравоохранения Российской Федерации, такие как тест-система «ИФА-овальбумин» или другие аналогичного качества.

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

**Транспортирование и хранение.** При температуре от 2 до 8 ºС в защищенном от света месте в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств», ОФС «Хранение лекарственных средств», ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты» и ОФС «Вакцины и анатоксины». Замораживание не допускается.