**Вакцина коклюшная бесклеточная ФС**

**очищенная, субстанция Вводится впервые**

 Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину коклюшную бесклеточную очищенную, субстанцию. Препарат представляет собой обезвреженную формальдегидом и теплом антигенную фракцию *Bordetella pertussis,*очищенную без разделения компонентов.

 1 мл субстанции содержит активный компонент - антигенную фракцию *B. pertussis* очищенную без разделения компонентов – не менее 1 мг белка.

 В состав препарата входят вспомогательные вещества.

 Вакцина коклюшная бесклеточная очищенная, субстанция предназначена для производства комбинированных вакцин, содержащих бесклеточный коклюшный компонент.

 ПРОИЗВОДСТВО

 Производство вакцины коклюшной бесклеточной очищенной представляет собой сложный многоступенчатый технологический процесс. Основными этапами производственного процесса являются: получение бактериальной массы *B.pertussis* на казеиново-угольном агаре с последующим смывом микробных клеток с поверхности питательной среды, полученную суспензию обрабатывают химическим реагентом и отделяют экстракт центрифугированием. Далее экстракт очищают на ультрафильтрационной установке, проводят хроматографическую очистку, концентрирование, стерилизующую фильтрацию и обезвреживание. Производственные штаммы и вирулентный штамм *B.pertussis* для контроля дермонекротического токсина хранятся в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов РФ. Штаммы должны отвечать требованиям по отбору, проверке и хранению производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикоидных бактерий, действующих на территории РФ. Штаммы должны быть адаптированы к производственным питательным средам и хранится в лиофилизированном виде при температуре минус 20 ºС или ниже. Допускается хранение при температуре от 2 до 8 ºС.

 Все этапы производства вакцины коклюшной бесклеточной очищенной, субстанции должны быть валидированы с целью подтверждения установленных требований, гарантирующих безопасность ее применения и соответствующих требованиям ОФС «Вакцины и анатоксины».

 ИСПЫТАНИЯ

 **Описание.** Прозрачная или слегка опалесцирущая жидкость, бесцветная или светло-желтого цвета. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Должны образовываться агглютинаты с коклюшным диагностикумом. Определение проводят в реакции коагглютинации с использованием тест – наборов для определения коклюшных антигенов в реакции коагглютинации, зарегистрированных и действующих на территории РФ.

**Видимые механические включения.** Должна соответствовать требованиям, указанным в ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

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

**Белок.** Не менее 1 мг/мл. Определение проводят без предварительного осаждения в соответствии с ОФС «Определение белка» по Лоури, метод А.

**Специфическая безопасность.** Должнабезопасной. Субстанцию разводят 0,9 % раствором натрия хлорида до концентрации белка 120 мкг/мл и вводят по 0,5 мл внутрибрюшинно 10 белым мышам массой 14-16 г. Мышам контрольной группы вводят по 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида.

Через 72 ч после инъекции суммарная масса опытной группы мышей не должна уменьшиться. Через 7 сут после инъекции относительный прирост суммарной массы тела мышей должен составлять не менее 60 % прироста суммарной массы тела контрольных животных. Если при проведении опыта данные условия нарушаются или имеется гибель хотя бы одного животного в опытной группе, опыт повторяют на удвоенном количестве животных при тех же условиях учета опыта.

Абсолютный прирост массы тела определяют как разницу между массой тела животных в группе через 7 сут и исходной массой тела Относительный прирост массы тела определяют путем деления абсолютного прироста массы тела опытных мышей на абсолютный прирост массы тела контрольных мышей и выражают в процентах.

 Примечание

 Мыши, используемые для испытания коклюшного компонента, и мыши в контрольной группе должны быть одного пола и из одной партии. При использовании животных обоего пола, их следует равномерно распределить по всем группам. До начала опыта (не менее чем за 2 ч до введения субстанции) мыши должны иметь свободный доступ к воде и корму.

**Дермонекротический токсин.** Должен отсутствовать. Определение проводят на 4- дневных аутбредных мышах обоего пола (мышах-сосунках).

Учет результатов проводят через 48 ч. Субстанция не должна вызывать изменения кожных покровов мышей-сосунков – отрицательная реакция (-). Положительной реакцией считается реакция при появлении сине-пурпурного окрашивания в области шеи (+).

**Реверсия токсичности.** Должна отсутствовать. Субстанцию разводят 0,9 % раствором натрия хлорида до концентрации белка 120 мкг/мл, делят на 2 образца и выдерживают в течение 28 сут при разных температурных условиях: первый – при температуре (37± 1) º С, второй – при температуре (5±3) º С.

Каждый образец вводят внутрибрюшинно по 0,5 мл пяти белым беспородным мышам массой тела 14-16 г, чувствительных к гистамину. Мышам контрольной группы вводят по 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида.

Через 5 сут животным вводят внутрибрюшинно 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида, содержащего 2 мг гистамина и проводят наблюдение в течение 24 ч. Животные в опытных и контрольной группах должны оставаться живыми.

Параллельно с исследованием опытных образцов проверяют чувствительность животных к гистамину с использованием референс-препарата коклюшного токсина. Проводят испытания и вычисление дозы, вызывающей гибель 50 % взятых в опыт животных, по методике, указанной в нормативной документации.

Партия мышей считается пригодной, если показатель гистаминсенсибилизирующей активности в МЕ/мл находится в пределах от 3,866 до 6,828.

**Стерильность.** Должна быть стерильной. Определение проводят методом прямого посева в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 100 ЭВ в вакцинной дозе 60 мкг. Определение проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины» в хромогенном тесте по конечной точке (метод Е).

**Специфическая активность.** Должна обладать специфической (антигенной) активностью и содержать в 1 мл не менее 10000 МЕ. Определение проводят в соответствии с ОФС Метод иммуноферментного анализа» по методу «сендвич» с использованием зарегистрированных в РФ иммуноферментных тест-систем для определения специфической активности коклюшной бесклеточной очищенной, субстанции в соответствии с инструкцией по применению.

**Удельная активность.** Не менее 1000 МЕ/0,1 мг белка (величина расчетная). Вычисляют удельную активность (Х) по формуле:

 Т

 Х = ---------- · 100 %,

 N

где:

Т – специфическая активность, МЕ/мл;

N- концентрация белка, мг/мл.

**Формальдегид.** Не более 200 мкг/мл. Определение проводят колориметрическим методом в соответствии с ОФС «Количественное определение формальдегида в биологических лекарственных препаратах».

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

 **Транспортирование и хранение.**  При температуре от 2 до 8 оС. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и ОФС «Иммунобиологические лекарственныепрепараты». Замораживание не допускается.