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

**Вакцина для профилактики ФС**

**синегнойной инфекции, раствор**

**для внутримышечного введения Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на вакцину для профилактики синегнойной инфекции, раствор для внутримышечного введения. Препарат представляет собой комбинированную вакцину в состав которой входят 8 иммунотипов*,* содержащую структурные и внеклеточные антигены инактивированных нагреванием штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.

 В состав препарата входит консервант.

ПРОИЗВОДСТВО

 Все стадии производственного процесса получения вакцины для профилактики синегнойной инфекции должны быть валидированы в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики, обеспечивающие качество и безопасность ее применения и должны соответствовать требованиям ОФС «Вакцины и сыворотки».

 Для производства вакцины используют штаммы *P.aeruginosa*, иммунотипов 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и иммунотип 3,7 культивируемые на искусственной питательной среде Дэвиса.

 1 доза препарата (1 мл) содержит по 0,125 мл каждого активного компонента.

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Прозрачный раствор светло-желтого цвета. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Должен вызывать специфическийиммунитет к синегнойной инфекции при иммунизации мышей. Определение проводят биологическим методом по разделу «Специфическая активность».

**Прозрачность.** Должен выдерживать сравнение с эталоном сравнения I. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Не должен превышать эталон сравнения Y4. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

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

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

**рН**. От 6,0 до 7,0. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом прямого посева~~.~~

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Специфическая токсичность.** Должен быть специфически безопасным. Испытания проводят на 10 белых беспородных мышах, от одного помета с массой тела от 16 до 18 г. Далее формируют 2 группы по 5 особей в каждой. Взвешивают животных в каждой группе и фиксируют общую и среднюю массу тела. Животным обеих групп вводят внутрибрюшинно по 0,5 мл вакцины и проводят наблюдение в течение 7 дней. На 3, 5 и 7 день всех животных взвешивают и фиксируют общую и среднюю массу тела.

Вакцину считают специфически безопасной, если средняя масса тела животных на 5 и 7 день выше, чем на 3 день и ни одного животного в течение 7 дней не появилось признаков недомогания.

**Специфическая активность.** Для каждого иммунотипа *P. aeruginosa* ЕД50 должна составлять не более 25 мкл. Для испытания используют 368 белых беспородных мышей массой тела от 18 до 22 г. Животных разделяют на 8 групп (по числу иммунотипов), по 46 особей в каждой. Предварительно готовят растворы для иммунизации, смешивая содержимое 10 ампул с последующим приготовлением трех разведенных растворов (1, 2, 3): 1:20; 1:40; 1:80, соответствующие концентрациям вакцины: 25 мкл; 12,5 мкл и 6,25 мкл в иммунизирующей дозе 0,5 мл. Каждая группа (по 46 особей) иммунизируется растворами 1, 2, 3 (по 10 мышей на каждый раствор), 10 мышей оставляют неиммунизируемыми для контроля инфицирующей дозы в 10 LD50 *P.aeruginosa* соответствующего иммунотипа и 6 мышей оставляют неиммунизируемыми для контроля 1 LD50.

Период иммунизации составляет 7 дней. Далее готовят бактериальную суспензию для заражения.

Для заражения используют тест-штаммы *P.aeruginosa* иммунотипов 1-7 и производственный штамм, представляющий собой комбинацию иммунотипов 3,7.

Определяют мутность каждой бактериальной суспензии, используя СО мутности. Для определения LD50 каждого иммунотипа готовят серию разведений исходной суспензии 15 единиц СО/мл. Для испытания используют 4 группы по 10 мышей в каждой. Каждому животному вводят внутрибрюшинно по 0,2 мл соответствующей суспензии и проводят наблюдение в течение 24 ч. На основании полученных результатов рассчитывают LD50/0,2 мл. Если результаты определения LD50/0,2 мл повторяются, как минимум, дважды, полученные значения можно использовать в дальнейшем для определения специфической активности.

Далее иммунизированным и не иммунизированным группам животных, вводят внутрибрюшинно по 0,2 мл суспензии, содержащей 10 LD50/0,2 мл и 1 LD50/0,2 мл каждого соответствующего иммунотипа, ~~предварительно~~ включая группу для контроля LD50. Наблюдают за животными от 24 до 48 ч. Если как минимум 80 % животных из не иммунизированной группы погибнет через 24 ч, испытания считают завершенным и подсчитывают количество павших и выживших животных в каждой группе.

Расчеты результатов испытаний могут быть основаны на основании 24 ч или 48 ч наблюдений, т.е. учитываются результаты того дня, когда пало 80 % мышей из контрольной группы.

ЕД50, выраженная в мкл вакцины, рассчитывается на основании количества павших и выживших животных статистическим методом наименьших квадратов с помощью соответствующей компьютерной программы или вручную.

**Содержание фенола.** От 2 до 4 мг/мл. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах».

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

**Транспортирование и хранение.** При температуре от 2 до 8 °С в защищенном от света месте в соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Замораживание не допускается.