**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
| ОФС.0.0.0000 |
| **БЕЛКИ-НОСИТЕЛИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КОНЪЮГИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДНЫХ ВАКЦИН ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ** |

Общая фармакопейная статья распространяется на белки-носители, конъюгированные с бактериальными полисахаридами, которые используют при производстве вакцин.

Использование альтернативных белков-носителей, технологии производства и методов испытаний должно быть обосновано.

Бактериальные полисахариды не способны индуцировать Т-зависимый иммунный ответ В-клеток, необходимый для формирования ответной реакции иммунологической памяти, и, как правило, имеют слабую иммуногенность у детей в возрасте до двух лет. Для усиления иммуногенности полисахариды конъюгируют с белками-носителями. Высоко иммуногенные конъюгаты белков-носителей с бактериальными полисахаридами увеличивают способность полисахаридов вызывать защитную ответную реакцию у иммунизированных детей.

В качестве белков-носителей в полисахаридных вакцинах используют: анатоксины, нетоксичные мутантные токсины, поверхностные или другие мембранные белки, выделенные из микроорганизмов. Микроорганизмы, используемые при производстве белков-носителей, могут иметь генетически модифицированное происхождение. Процесс производства, используемый для получения белков-носителей, должен обеспечивать стабильность получения серий белков-носителей, подходящих для конъюгации с полисахаридными антигенами.

Перед конъюгацией с полисахаридом могут быть установлены критерии приемлемости низкой бионагрузки. Обязательным условием является фильтрация перед хранением через фильтр, задерживающий бактерии, и принятие соответствующих мер для предотвращения контаминации и роста микроорганизмов во время хранения.

Производство белков-носителей основывается на системе посевной культуры. Должно быть подтверждено отсутствие контаминации посевной культуры подходящим методом с необходимой чувствительностью. При необходимости культуру микроорганизмов инактивируют, белки-носители очищают подходящим методом.

Белки-носители характеризуют одним или несколькими подходящими методами (например, электрофорез в полиакриламидном геле с натрия додецилсульфатом, изоэлектрическое фокусирование, высокоэффективная жидкостная хроматография, эксклюзионная хроматография с детекцией многоуглового лазерного рассеивания, аминокислотный анализ, аминокислотное секвенирование, круговой дихроизм, флуоресцентная спектрометрия, пептидное картирование, масс-спектрометрия). Чистоту белков подтверждают подходящим методом. Для подтверждения, что испытуемый образец не содержит специфических токсинов, выполняют соответствующее испытание в процессе валидации производства или рутинного анализа. При необходимости на этапе очистки проводят контроль удаления отдельных производственных примесей для подтверждения постоянства процесса очистки. При использовании рекомбинантных белков-носителей выполняют испытания для определения содержания следующих примесей:

- остаточные белки клетки-хозяина, включая белковые остатки экспрессирующей конструкции (вектора экспрессии);

- остаточная ДНК клетки-хозяина.

**Идентификация**. Для подтверждения подлинности белка-носителя используют подходящий метод.

Для приготовления конъюгатов могут быть использованы только белки-носители, выдерживающие следующие испытания:

**рН** (*ОФС «Ионометрия»*). Если применимо, проводят испытание белка-носителя до конъюгирования. Должно соответствовать установленным нормам конкретной вакцины.

**Содержание белка**. Содержание белка-носителя определяют подходящим методом. Должно соответствовать установленным нормам конкретной вакцины.

**Бактериальные эндотоксины** *(ОФС «Бактериальные эндотоксины»)*. Предел содержания бактериальных эндотоксинов должен быть обоснован.

К белкам-носителям применяют следующие требования:

***Дифтерийный анатоксин***. Дифтерийный анатоксин, полученный, как описано в фармакопейной статье на анатоксин для профилактики дифтерии адсорбированный, должен выдерживать требования указанной фармакопейной статьи для нерасфасованного очищенного анатоксина, за исключением испытания на стерильность.

***Столбнячный анатоксин***. Столбнячный анатоксин, произведённый как описано в фармакопейной статье на анатоксин для профилактики столбняка адсорбированный, должен выдерживать требования указанной фармакопейной статьи для нерасфасованного очищенного анатоксина, за исключением того, что антигенная чистота допускается не менее 1500 Lf на миллиграмм белкового азота, и испытание на стерильность не требуется.

***Дифтерийный белок CRM 197***. Дифтерийный белок *CRM 197* производят при культивировании генетически модифицированных *(С7/β197)* или немодифицированных *(mCRM)* микроорганизмов *Corynebacterium diphtheriae*, или получают с помощью технологии рекомбинантной ДНК, используя в качестве продуцентов, например, генетически модифицированные штаммы *Escherichia coli*. Супернатант клеток штаммов микроорганизмов может быть сконцентрирован ультрафильтрацией и очищен путём последовательных стадий осаждения, фильтрации и хроматографирования. В случае, когда дифтерийный белок *CRM 197* производится на той же производственной площадке, что и дифтерийный токсин, он должен иметь отличия от активного токсина, чётко определяемые подходящим методом. Чистота дифтерийного белка *CRM 197* должна быть не менее 90 %.

***Поверхностный мембранный белковый комплекс Neisseria meningitidis группы В***. Поверхностный мембранный белковый комплекс *Neisseria meningitidis* группы В выделяют из бактериальных клеток штаммов микроорганизмов с использованием буферного раствора, содержащего детергент. Первым удаляют клеточный дебрис. Поверхностный мембранный белковый комплекс может быть сконцентрирован и очищен последовательно фильтрацией и дополнительными подходящими стадиями очистки. Содержание липополисахаридов не должно превышать 8 %. Относительное количество основных поверхностных мембранных белков должно быть обосновано. Поверхностный мембранный белковый комплекс должен выдерживать испытание на пирогенность *(ОФС «Пирогенность»)*: каждому кролику вводят по 0,25 мкг поверхностных мембранных белков на килограмм массы тела.

***Рекомбинантный белок*** ***D***. Белок D – поверхностный белок нетипируемой *Haemophilus influenzae*. Его получают, используя генетически модифицированный штамм *E. coli*, несущий плазмиду с последовательностью, кодирующей белок D. Для активации экспрессии белка D, модифицированный штамм культивируют в подходящей жидкой питательной среде. После завершения культивирования выполняют стадии выделения и очистки.

Чистота белка D должна быть не менее 95 %.