

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Вакцины и анатоксины для ветеринарного применения

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на иммунобиологические лекарственные препараты (ИЛП) - вакцины и анатоксины для ветеринарного применения, вызывающие при введении в организм животного, включая птиц, активный специфический иммунный ответ против болезней, вызываемых бактериями, их токсинами, вирусами, грибами, микоплазмами. Основным действующим началом каждой вакцины является иммуноген, т. е. корпускулярная или растворенная субстанция, несущая на себе химические структуры, аналогичные компонентам возбудителя болезни.

В зависимости от природы иммуногена вакцины подразделяются на:

- корпускулярные (цельномикробные или целновирионные), состоящие из микроорганизмов, сохраняющих в процессе изготовления свою целостность;
- компонентные (субъединичные), содержащие продукты жизнедеятельности микроорганизма (анатоксины) или его интегральные компоненты;
- векторные (рекомбинантные), в которых ген, контролирующий синтез протективного белка, встроен в авирулентный микроорганизм в расчете на то, что синтез этого белка будет происходить в организме вакцинированного животного;
- синтетические, где в качестве иммуногена используется химический аналог протективного белка, полученный методом химического синтеза.

В зависимости от состава вакцины подразделяются на:

- моновалентные, в состав которых входит один антиген;
- поливалентные, в состав которых входит два и более штаммов или вариантов возбудителя одной болезни;

- комбинированные (ассоциированные), изготовленные из культур штаммов разных инфекционных болезней.

Активными компонентами могут являться:

- живые микроорганизмы (авирулентные или аттенуированные), полученные в результате глубоких и стабильных изменений в геноме микроорганизма, исключающих вероятность реверсии к вирулентному фенотипу;

- микроорганизмы, инактивированные физическим или химическим способом при сохранении их иммуногенной активности;

- антигены, выделяемые микроорганизмами или извлеченные из них, а также полученные по технологии синтеза или методами генной инженерии.

С целью повышения иммуногенности антигены могут быть агрегированы, полимеризованы или конъюгированы с носителем или адсорбированы на последнем.

Вакцины и анатоксины, наряду с одним или несколькими антигенами, могут содержать вспомогательные вещества. К вспомогательным компонентам относятся вещества органического или неорганического происхождения (адъюванты, консерванты, инактиванты, стабилизаторы и т.п.), вносимые в препараты для придания им определенных физико-химических и/или биологических свойств. Их наличие и количество должно быть отражено в нормативной документации производителя. В качестве вспомогательных веществ могут быть использованы только вещества, безопасность и эффективность которых при соответствующем пути введения установлена.

Вакцины и анатоксины выпускают в следующих лекарственных формах:

- растворы или суспензии (для перорального применения или инъекций);
- эмульсии для инъекций;
- лиофилизаты для приготовления растворов или суспензии (для перорального применения или инъекций).

Бактериальные вакцины, содержащие целостные клетки, представляют собой суспензии с различной степенью опалесценции. Они могут быть также лиофилизированными или адсорбированными. Концентрацию живых бактерий и микоплазм определяют прямым подсчетом колониеобразующих единиц, инактивированных - выражают в Международных Единицах мутности.

Бактериальные вакцины, содержащие компоненты бактерий, представляют собой суспензии или лиофилизаты. Они могут быть адсорбированными. Содержание антигенов определяют соответствующим валидированным методом количественного определения.

Бактериальные вакцины готовят из культур штаммов микроорганизмов, выращенных на твердых или жидких средах, или другими подходящими способами. Штаммы используемых бактерий могут быть модифицированы с помощью генной инженерии. Подлинность, чистоту и антигенную активность каждой используемой бактериальной культуры тщательно контролируют.

Бактериальные токсины получают из культур токсигенных штаммов микроорганизмов, выращенных в соответствующих средах, или химическим синтезом. Бактериальные анатоксины готовят из токсинов путем ослабления их токсичности физическими или химическими способами, максимально очищая их от балластных примесей, сохраняя при этом высокую антигенную и иммуногенную активность и гарантируя их инактивацию.

Количество анатоксина в единице объема или в прививочной дозе выражают в единицах массы или установленных Международных единицах. Иммуногенную активность анатоксинов в составе адсорбированных вакцин выражают в МЕ (международных единицах).

Бактериальные анатоксины представляют собой прозрачные или слегка опалесцирующие жидкости. Некоторые анатоксины могут быть лиофилизированными. Адсорбированные бактериальные анатоксины - это суспензии или эмульсии.

Жидкие лекарственные формы адсорбированных вакцин и анатоксинов могут содержать осадок на дне контейнера, легко разбивающийся в равномерную взвесь.

Вирусные вакцины представляют собой инактивированные или живые вирусы, или антигенные компоненты вирусов. Для получения инактивированных вирусных вакцин (эмульсионных, сорбированных, цельновирионных, расщеплённых, субъединичных) могут быть использованы как вирулентные, так и аттенуированные штаммы. Отсутствие нейровирулентности штамма должно быть продемонстрировано наиболее чувствительными методами. Активными компонентами вирусных вакцин могут служить рекомбинантные антигены, полученные методами генной инженерии, а также синтетические антигены, полученные методом химического синтеза.

Размножение вируса может быть осуществлено на куриных, утиных, гусиных или перепелиных эмбрионах, а также с использованием линий диплоидных клеток, культур первичных и перевиваемых клеток животных, клеток насекомых и других.

Содержание вирусных частиц в живых вакцинах выражают в ТЦД₅₀ (тканевые цитопатогенные дозы) ООЕ₅₀ (оспообразующие единицы), БОЕ₅₀ (бляшкообразующие единицы), ЛД₅₀ (летальные дозы), ФОЕ₅₀ (фокусообразующие единицы), ЭИД₅₀ (эмбрионинфицирующие дозы), ИД₅₀ (инфицирующие дозы), ГАЕ₅₀ (гемадсорбирующие дозы) единицах.

Грибковые вакцины, представляют собой однородную суспензию из грибных спор (микроконидий) и/или фрагментов мицелия. Лиофилизированные грибковые вакцины, представляют собой пористую массу. Живые грибковые вакцины изготавливают из аттенуированных штаммов грибов, полученных в результате селекции по признаку спорообразования, антигенной и иммуногенной активности.

Инактивированные грибковые вакцины изготавливают, как из аттенуированных, так и вирулентных штаммов грибов. Штаммы

используемых грибов могут быть модифицированы с помощью генной инженерии.

2. ПРОИЗВОДСТВО

2.1. Общие требования

Все этапы производства вакцин и анатоксинов должны осуществляться в условиях соблюдения надлежащих требований организации производства и быть валидированы с целью подтверждения установленных норм, гарантирующих их качество и безопасность применения. При изменениях производственного процесса, введении нового регламента или способа производства, оказывающих влияние на качество препаратов и/или стабильность и воспроизводимость процесса, представляются доказательства их пригодности для серийного производства и материалы по *валидации*.

В производстве вакцин и анатоксинов:

- используют только генетически стабильные производственные штаммы микроорганизмов, охарактеризованные и депонированные в официальных коллекциях, ежегодно контролируемые по всем биологическим свойствам в соответствии с регламентированными требованиями; при этом генетическая стабильность производственного штамма является критерием, ограничивающим число пассажей микроорганизма;

- используют питательные среды, обладающие высокими ростовыми свойствами.

При производстве вакцин и анатоксинов используют рабочие посевные серии микроорганизмов, которые должны обладать теми же характеристиками, что и штамм, из которого получена исходная посевная серия.

Методы культивирования должны обеспечивать сохранение иммуногенных свойств вакцинных штаммов, безопасность препарата и предотвращать контаминацию посторонними вирусами, бактериями, грибами и микоплазмами.

Животных, используемых при производстве и испытаниях, получают из хозяйств, благополучных в отношении бактериальных, вирусных, грибковых, микоплазменных, прионных и других болезней.

При производстве и/или испытании препарата с использованием микроорганизмов I-II или III-IV группы патогенности (опасности) работу проводят при соблюдении соответствующих санитарно-эпидемиологических правил.

2-1-1. Субстраты для производства

Культуры клеток, используемые для получения вакцин, соответствовать требованиям, изложенным в ОФС «Культуры клеток для ветеринарного применения».

При культивировании клеток следует применять антибиотики в минимально эффективной концентрации. В культуральных средах допустимо наличие индикатора pH, например, фенолового красного.

Куриные, утиные или перепелиные эмбрионы, используемые для производства живых вакцин должны быть СПФ (свободные от специфической патогенной микрофлоры). Куриные, утиные, гусиные или перепелиные эмбрионы, используемые для производства инактивированных вакцин, получают только от здоровой птицы из хозяйств, благополучных по инфекционным болезням птиц.

2-1-2. Питательные среды, используемые для приготовления посевных материалов и для производства

Должны быть указаны качественный состав питательных сред, используемых для приготовления посевного материала и для производства, и требования к качеству каждого заявленного ингредиента. Для ингредиентов животного происхождения указывают виды животных, от которых они получены, и страна происхождения. Описывают процесс приготовления используемой питательной среды, включая процедуры стерилизации.

Питательные среды для культивирования вакцинных штаммов не должны содержать ингредиентов, вызывающих токсические, аллергические

или другие нежелательные реакции у животных. Если включение таких веществ в состав среды необходимо, то должно быть доказано, что количества, в которых они присутствуют в готовом продукте, уменьшено до уровня, гарантирующего безопасность продукта.

2-1-3. Серии посевного материала

2-1-3-1. Серии бактериального и грибкового посевного материала

2-1-3-1-1. Общие требования

Указывают род и вид (и разновидности, если приемлемо) бактерий и наименование (номер) производственного штамма. Во всех возможных случаях для работы с бактериями используют систему серий посевного материала. Каждая серия главного посевного материала испытывается, как указано ниже. Для каждой серии главного посевного материала хранятся данные о происхождении, дате выделения, истории пассажей (включая очистку и процедуры описания), а также условий хранения.

2-1-3-1-2. Размножение

Указывают минимальное и максимальное количество пересевов каждой серии главного посевного материала до стадии производства. Регистрируют используемые питательные среды, методы подготовки посевного материала, приготовления суспензии для посева, способы посева, титр и концентрацию посевного материала. Должно быть показано, что характеристики посевного материала (например, диссоциация или антигенность) не изменяются при пересевах. Ведут записи условий хранения каждой серии посевного материала.

2-1-3-1-3. Идентификация и чистота

Показывают, что каждая серия главного посевного материала содержит только указанные виды и штаммы бактерий. Кратко описывают метод идентификации каждого штамма по ферментативным, антигенным, культуральным и морфологическим характеристикам и, по возможности, регистрируют отличия от родственных штаммов, а также метод определения чистоты штамма. Если установлено, что серия главного посевного материала

содержит живые микроорганизмы или любые другие разновидности, отличающиеся от указанного вида и штамма, то ее бракуют и утилизируют.

2-1-3-2. Серии вирусного посевного материала

2-1-3-2-1. Общие требования

При производстве используют систему серий вирусного посевного материала. Каждая серия главного посевного материала испытывается, как указано ниже. Для каждой серии главного посевного материала хранятся данные о происхождении, дате выделения, истории пассажей (включая очистку и процедуру описания), а также об условиях хранения. Каждой серии главного посевного материала присваивается специфический код с целью идентификации. Обычно при производстве вирусных вакцин проводят не более 5 последовательных пассажей серии главного посевного материала. В описанных ниже испытаниях серии главного посевных материала используются вирусы, подвергшиеся не более пяти последовательным пассажам из серии главного посевного материала с начала испытания, если не указано иначе в частной фармстатье.

2-1-3-2-2. Размножение

Серия главного посевного материала и все последующие пассажи выращиваются в клетках, эмбрионах или в животных, в зависимости от технологического процесса для производства вакцины (см. выше), и, где применимо, используя субстанции животного происхождения.

2-1-3-2-3. Идентификация

Должен быть использован подходящий метод идентификации вакцинного штамма, который позволяет наиболее четко различать родственные штаммы.

2-1-3-2-4. Бактерии и грибы

Серия главного посевного материала должна удовлетворять испытанию на отсутствие контаминации посторонней микрофлорой. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота», если в фармакопейной *статье* не указан иной метод испытания.

2-1-3-2-5. Микоплазмы (если предусмотрено)

Серия главного посевного материала должна удовлетворять испытанию на отсутствие контаминации микоплазмами. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Испытание на присутствие микоплазм»

2-1-3-2-6. Отсутствие посторонних вирусов

Определение посторонних вирусов проводят в соответствии с ОФС «Определение вирусной контаминации в вирусных вакцинах для ветеринарного применения».

Дополнительно проводят испытание на обнаружение (выявление) вируса лейкоза птиц и ретикулоэндотелиоза птиц, как указано ниже.

Испытание на обнаружение (выявление) вируса лейкоза птиц

Готовят не менее 13 образцов монослоя (повторов) или DF-1 клеток, или первичных или вторичных фибробластов куриных эмбрионов из тканей эмбрионов кур 9-11 суточного возраста, генетическая восприимчивость которых к подгруппам А, В и вируса лейкоза птиц была установлена и которые поддерживают рост экзогенных, но не эндогенных вирусов лейкоза птиц (подходящими являются клетки от С/Е штамма цыплят). Каждый монослой клеток должен иметь поверхность площадью приблизительно 50 см². Культуральную среду удаляют, когда клетки сформируют сплошной монослой. По 0,1 мл испытуемого образца вносят на каждый из 5 образцов монослоя. Оставляют в течение 1 ч. «на контакт» для обеспечения адсорбции вируса, затем добавляют питательную среду. В качестве положительных контролей в другие 6 образцов монослоя (по 2 образца) вносят вирус лейкоза птиц подгруппы А (не более 10 CCID₅₀ в 0,1 мл), вирус лейкоза птиц подгруппы В (не более 10 CCID₅₀ в 0,1 мл) и вируса лейкоза птиц подгруппы J (не более 10 CCID₅₀ в 0,1 мл). В качестве отрицательного контроля используют не менее двух не инокулированных образцов монослоя клеток.

Клетки инкубируют при температуре (37±0,5) °С в смеси равных объемов питательных сред Игла и 199 с добавлением 5 % телячьей сыворотки,

в общей сложности, в течение не менее 9 дней, выполняя пересевы с 3-4-дневными интервалами. От каждого уровня пассажа клетки сохраняют и собирают в конце общего инкубационного периода. Клетки каждого уровня пассажа каждого монослоя промывают и ресуспендируют из расчета 10^7 клеток/миллилитров забуференным барбиталом физиологическим раствором для последующего испытания в реакции связывания комплемента (COFAL-тест) или фосфатным забуференным физиологическим раствором для испытания с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (т-ИФА). Затем проводят 3 цикла замораживания и оттаивания с целью высвобождения любого группоспецифического антигена и выполнения COFAL-теста или ИФА испытания на каждый экстракт для выявления группоспецифического антигена вируса лейкоза птиц (если присутствует).

Испытание считается недостоверным, если группоспецифический антиген обнаруживается менее чем в 5 из 6 образцов монослоя положительного контроля, или если положительный результат получают в любом из образцов отрицательного контроля, или если результаты обоих образцов отрицательных контролей неоднозначны. Если результаты более одного из испытуемых образцов монослоя клеток не подлежат оценке (неубедительны), то должны быть выполнены последующие посевы на дополнительных образцах монослоя фибробластов, и исследования проведены до тех пор, пока не будут получены однозначные результаты.

Присутствие вируса лейкоза птиц в испытуемом образце подтверждено, если положительный результат получен для любого из испытуемых монослоев. Серия посевного материала (seedlot) соответствует требованиям испытания, если не обнаружено наличие вируса лейкоза птиц.

Испытание на обнаружение (выявление) вируса ретикулэндотелиоза птиц

Готовят 11 образцов монослоя клеток первичных и вторичных фибробластов из тканей эмбрионов кур 9-11-суточного возраста или

фибробластов из тканей эмбрионов уток 13-14-суточного возраста, каждый монослой с площадью поверхности монослоя приблизительно 25 см². Культуральную среду удаляют, когда клетки сформируют полный монослой. По 0,1 мл испытуемого образца вносят в каждый из 5 образцов монослоя клеток. Оставляют "на контакт" для обеспечения адсорбции вируса в течение 1 ч., затем добавляют питательную среду. В 4 образца монослоя инокулируют вирус ретикулоэндотелиоза птиц, в качестве положительных контролей (не более 10 CCID₅₀ в 0,1 мл). Оставляют 2 неинокулированных образца монослоя в качестве отрицательных контролей.

Клетки инкубируют при температуре (37±0,5)°С, в общей сложности, в течение не менее 10 дней, производят пересев дважды с 3—4-дневными интервалами. Регулярно в течение всего периода инкубации проводят микроскопическое исследование всех культур клеток на наличие любого цитопатического эффекта. Испытание считается недостоверным, если менее, чем в 3 из 4 положительных контролей, или менее, чем в 4 из 5 испытуемых образцов монослоя, или ни в одном из 2 отрицательных контролей нет монослоя после любого пассажа.

При последнем пересеве фибробласты выращивают на подходящем субстрате так, чтобы получить площадь приблизительно 10 см² сплошного монослоя фибробластов от каждого из 11 исходных образцов монослоя для последующего исследования: исследуют приблизительно 10 см² сплошного слоя фибробластов, полученных от каждого из 11 исходных образцов монослоя, на присутствие ретикулоэндотелиального вируса птиц в реакции иммунофлюоресценции (РИФ).

Испытание считается недостоверным, если вирус ретикулоэндотелиоза птиц обнаруживается менее, чем в 3 из 4 положительных контролей или в любом из отрицательных контролей, или если результаты обоих образцов отрицательных контролей неоднозначны. Если результаты более 1 из испытуемых образцов монослоя клеток не подлежат оценке (неубедительны), то должны быть выполнены последующие посеvy на дополнительных

образцах монослоя фибробластов, и исследования проведены до тех пор, пока не будут получены однозначные результаты.

Серия посевного материала (seed lot) соответствует требованиям испытания, если не обнаружено наличие вируса ретикулоэндотелиоза птиц.

2-1-4. Инактивация

При необходимости вакцины подвергают валидированной процедуре инактивации, эффективность и стабильность которой доказаны.

2-1-4-1. Формальдегид

Если в качестве инактивирующего агента используют формальдегид, то выполняют испытание на свободный формальдегид, как указано в пункте 4-6. раздела «Испытания».

2-1-4-2. Другие инактивирующие агенты

При использовании других инактивирующих агентов выполняют соответствующие испытания для доказательства того, что инактивирующий агент удален или что его остаточное содержание находится на приемлемом уровне.

2-1-4-3. Остаточное количество живых микроорганизмов и/или оценка детоксификации. Полноту инактивации и/или детоксификации определяют непосредственно после процедуры инактивации и/или детоксификации и, если применимо, нейтрализации или удаления инактивирующего или детоксифицирующего агента.

2-1-4-3-1. Бактериальные и грибковые вакцины

Выбранное испытание должно быть пригодным для испытуемой бактериальной вакцины и должно включать, по крайней мере, два пересева на производственной питательной среде или на аналогичной жидкой среде или в среде, указанной в частной статье. Продукт выдерживает испытание, если отсутствует рост любого микроорганизма.

2-1-4-3-2. Бактериальные анатоксины

Выбранное испытание должно быть пригодным для присутствующего в вакцине анатоксина или анатоксинов и обладать наибольшей возможной чувствительностью.

2-1-4-3-3. Вирусные вакцины

Выбранное испытание должно быть пригодным для испытуемой вирусной вакцины и должно включать, по крайней мере, два пассажа в культурах клеток, эмбрионах или, при отсутствии другого пригодного чувствительного метода, в животных. Количество образцов культур клеток, эмбрионов или животных должно обеспечивать соответствующую чувствительность теста. При испытаниях с использованием культур клеток 1,0 мл инактивированной биомассы вносится в монослой культуры клеток площадью не менее 150 см². Продукт выдерживает испытание, если признаки наличия любого живого вируса или другого микроорганизма отсутствуют. Готовую не расфасованную вакцину готовят путем объединения одной или нескольких партий антигенов, которые соответствуют всем соответствующим требованиям с любыми дополнительными веществами, такими как адъюванты, стабилизаторы, антимикробные консерванты или разбавители.

2-2. Выбор состава вакцины и выбор вакцинного штамма

При выборе состава вакцины и выборе вакцинного штамма необходимо провести оценку безопасности, эффективности и стабильности. Общие требования по оценке безопасности и эффективности вакцин приведены в ОФС «Оценка безопасности вакцин, иммунных сывороток и глобулинов для ветеринарного применения». Эти требования могут быть уточнены или дополнены требованиями частных фармакопейных статей.

Для живых вакцин максимальный титр вирусов или количество бактерий, допустимые с точки зрения безопасности, устанавливаются в ходе разработки. Эти данные используют в качестве приемлемого максимального титра при контроле каждой серии вакцины при выпуске.

2-2-1. Активность и иммуногенность

Испытания, описываемые в разделах «Активность» и «Иммуногенность» частных фармакопейных статей, выполняют следующие цели:

- с помощью достоверного испытания в контролируемых экспериментальных условиях раздел «Активность» устанавливает минимальную приемлемую иммунизирующую активность вакцин; сохранность которой должна быть гарантирована в течение срока годности;
- испытание «Иммуногенность» рассматривается как часть этого испытания.

2-2-2. Путь и способы введения

В ходе разработки вакцины безопасность и иммуногенность подтверждается для каждого рекомендуемого пути и способа введения.

2-2-3. Категории животных

В частных фармакопейных статьях могут содержаться указания, что определенное испытание должно быть выполнено на животных тех видов, для которых препарат рекомендован.

2-2-4. Антимикробные консерванты

Антимикробные консерванты используют для предупреждения микробной контаминации, возникающей в процессе использования вакцины, длительность которого не превышает 10 ч после вскрытия контейнера. Антимикробные консерванты не включают в состав лиофилизированных препаратов. Однако, если обосновано, с учетом максимального рекомендованного периода использования после приготовления они могут содержаться в разбавителе для многодозовых лиофилизированных продуктов. Включение антимикробных консервантов в состав однодозовых жидких препаратов не приемлемо, если только не обосновано и разрешено уполномоченным компетентным органом. При использовании антимикробного консерванта должно быть доказано отсутствие его влияния на безопасность или эффективность вакцины.

2-2-5. Адсорбенты

Вакцины и анатоксины могут быть адсорбированы на алюминия гидроксиде, алюминия фосфате, кальция фосфате или других адсорбентах, безопасность и эффективность которых при соответствующем пути введения установлена.

В процессе производства адсорбированных вакцин и анатоксинов используют валидированный метод адсорбции антигена, обеспечивающий регламентированную полноту сорбции на протяжении всего срока годности иммунобиологического лекарственного препарата. Количество и сорбционная емкость адсорбента должны обеспечивать максимально возможную сорбцию антигена и ее стабильность.

2-2-6. Стабильность

Данные по стабильности вакцины необходимы для обоснования предполагаемого срока годности. К этим данным относятся результаты определения количества бактерий, титров вируса или определения активности, которые выполняют через определенные интервалы времени в пределах срока годности препарата и через 3 месяца после окончания срока годности. Испытания проводят не менее чем на 3 репрезентативных сериях (партиях) вакцин, хранившихся в рекомендуемых условиях; одновременно определяют содержание воды (для лиофилизированных препаратов), а также рН (при необходимости).

2-3. Испытания в процессе производства

Отдельные испытания могут быть выполнены на готовой не расфасованной вакцине вместо испытания серии или серий, приготовленных из нее.

2-3-1. Определение остаточного количества живых вирусов/бактерий/грибов и/или оценки детоксификации.

Когда вспомогательные вещества, входящие в состав инактивированных вакцин, могут мешать проведению испытания на инактивацию и/или детоксификацию, испытание выполняют в процессе производства готового не расфасованного продукта, после объединения различных антигенов, но

перед добавлением вспомогательных веществ. В этом случае испытание на инактивацию или детоксификацию серии готовой вакцины или анатоксина может быть исключено.

2-3-2. Физические испытания

У вакцин с масляным адъювантом оценивается вязкость и стабильность эмульсии соответствующими методами. Продукт должен соответствовать установленным нормам.

2-3-3. Химические испытания

Выполняют определение концентрации соответствующих веществ, таких как алюминий и консерванты, для подтверждения соответствия нормам, установленным для продукта.

При необходимости указывают требования к количественному содержанию белка, нуклеиновых кислот, полисахаридов и др. и описывают метод их количественного определения (в случае, если они не подлежат включению в раздел «Специфическая активность»).

2-3-4. Потеря в массе при высушивании и определение воды

Содержание влаги должно быть не более 5,0% для лиофилизированных вакцин, если нет других указаний в нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании» и/или ОФС «Определение воды».

2-3-5. Герметизация и наличие вакуума

Определение проводят в соответствии с ОФС. 1.8.1.0002.15 «Иммунобиологические лекарственные препараты», раздел «Производство», пункт «Герметизация и наличие вакуума».

Флаконы и ампулы должны быть герметичны, испытанию подлежат все флаконы и ампулы серии препарата.

3. СЕРИЯ (ПАРТИЯ)

Если не указано и разрешено иначе в частной статье, готовую не расфасованную вакцину разливают в асептических условиях в стерильные с контролем первого вскрытия контейнеры, которые после лиофилизации (или

без проведения лиофилизации) укупоривают таким образом, чтобы исключить контаминацию.

Только серия, соответствующая всем требованиям, приведенным разделе «4. Испытания серии (партии)» или в соответствующих частных статьях, может быть выпущена в обращение.

4. ИСПЫТАНИЯ СЕРИИ (ПАРТИИ)

Методики, используемые для проведения испытаний, должны быть описаны максимально подробно с указанием реактивов, реагентов, лабораторного оборудования, приборов, требований к животным, штаммам микроорганизмов и культур клеток.

Вакцины выдерживают испытания, указанные в частных статьях, включая, где применимо, следующее:

4-1. Внешний вид (Описание)

Каждый контейнер (флакон, шприц или ампула) в каждой серии готовой вакцины оценивают визуально или с помощью автоматизированных систем на соответствие внешнего вида.

4-2. Концентрация водородных ионов, рН

Значение рН жидких вакцин и разбавителей должны соответствовать нормам, установленным для продукта. Нормативные требования указывают в нормативной документации. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия». Испытания жидких лекарственных форм проводят с неразведенным препаратом; лиофилизированных форм - с препаратом, растворенным в прилагаемом растворителе, а при его отсутствии - в растворителе, предусмотренном инструкцией по применению.

4-3. Наличие вакуума в ампулах (флаконах)

Определение проводят в соответствии с ОФС. 1.8.1.0002.15 «Иммунобиологические лекарственные препараты», раздел «Производство», пункт «Герметизация и наличие вакуума».

4-4. Подлинность

Подтверждают различными лабораторными методами, позволяющими *специфически* идентифицировать лекарственный препарат; биологическими, *иммунобиологическими*, молекулярными, *химическими* или физико-химическими.

Для инактивированных вакцин испытание на подлинность, приведенное в частных статьях, обычно представляет испытание по выработке антител, так как оно применимо для всех вакцин.

4-5. Свободный формальдегид

Если формальдегид использовали в производстве, то концентрация свободного формальдегида не должна превышать 0,5 г/л. если отсутствуют доказательства безопасности его более высоких концентраций. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение формальдегида в иммунобиологических лекарственных препаратах».

4-6. Фенол

Если вакцина содержит фенол, то его концентрация не должна превышать 5 г/л. Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола спектрофотометрическим методом в иммунобиологических лекарственных препаратах».

4-7. Алюминий

Не более 5 мг/мл алюминия, если при приготовлении использовался адсорбент, содержащий алюминий, и если в нормативной документации нет иных указаний. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение ионов алюминия в сорбированных иммунобиологических лекарственных препаратах».

4-8. Стерильность

Инактивированные вакцины и анатоксины для инъекций должны быть стерильными. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

Для живых вакцин на основе бактерий, вирусов, микоплазм или грибов определяют отсутствие микроорганизмов, отличающихся от вакцинных штаммов с помощью соответствующих методов, таких как микроскопическое

исследование и посев на дифференциально-диагностические питательные среды. Для живых бактериальных вакцин раздел «Стерильность» заменяют разделом «Отсутствие посторонних микроорганизмов». В нормативной документации указывают требования и методы определения. При необходимости проведения контроля на отсутствие микоплазм данный подраздел помещают после описания контроля на стерильность, не выделяя его в заголовке. Живая вирусная вакцина должна выдерживать испытание на отсутствие контаминации микоплазмами (культуральный метод).

4-9. Микробиологическая чистота

Для не инъекционных лекарственных форм указывают максимально допустимую контаминацию препарата непатогенными микроорганизмами и перечень видов микроорганизмов, наличие которых недопустимо. Определение проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

4-10. Наличие посторонней микрофлоры

Испытанию подлежат живые вакцины. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота», если в фармакопейной *статье* не указан иной метод испытания.

4-11. Пирогенность или бактериальные эндотоксины

Нормативные требования указывают в нормативной документации производителя. Определение проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность» или ОФС «Бактериальные эндотоксины». Для препаратов, вводимых парентерально, которые не содержат в своем составе эндотоксины, указывают метод определения, пробоподготовку и тест-дозу препарата, допустимые условия определения (величина допустимых показателей температуры тела животных или содержание бактериальных эндотоксинов в соответствующих единицах).

4-12. Специфическая безопасность

Указывают нормативные требования и приводят описание методов *in vivo* и/или *in vitro*, позволяющих оценить полноту инаktivации (для

инактивированных вакцин), допустимую остаточную вирулентность микроорганизмов (для живых вакцин) или отсутствие экзотоксинов (для анатоксинов). Испытание проводят в соответствии с ОФС «Оценка безопасности вакцин, иммунных сывороток и глобулинов для ветеринарного применения».

4-13. Аномальная токсичность (Безвредность)

Приводят нормативные требования и описывают методы, позволяющие доказать отсутствие в препарате токсических веществ, с указанием вида животных, тест-дозы, способа введения препарата, времени наблюдения и критериев приемлемости результатов. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Определение безвредности проводят в соответствии с требованиями нормативной документации производителя препарата.

4-14. Специфическая активность

Указывают требования к специфической активности и методы ее количественной оценки *in vivo* и/или *in vitro* (например, количественное содержание антигена, количественное содержание живых микроорганизмов в единице объема или дозе, антигенная активность, иммуногенные свойства и др.). Выбор применяемых методик определяется видом препарата.

Концентрацию живых спор (микрোকонидий) определяют подсчетом колониеобразующих единиц, инактивированных – прямым подсчетом в счетной камере или другими валидированными методами.

При использовании математических методов расчета результатов анализа в фармакопейной статье приводят соответствующую формулу с расшифровкой обозначений, а в *случае* необходимости, и пример расчета.

При исследованиях на животных указывают их вид, породу/линию, количество, массу тела, возраст, пол. Описывают пробоподготовку, дозы, схемы и методы введения испытуемых препаратов и стандартных образцов (в случае использования), методы оценки результатов и расчета, требования к результатам испытания. При использовании контрольных штаммов приводят

их наименование и название коллекции, заражающую дозу и способ введения.

В случае если предусмотрено применение эмбрионов птиц, приводят требования к их возрасту; при использовании культур клеток - их наименование.

В соответствии с положениями Европейской Конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» испытания должны выполняться с использованием минимально допустимого количества животных и с причинением им минимального вреда, страдания, боли или в течение минимального времени. Критерии для испытаний, приведенных в частных статьях, должны применяться с учетом этих положений.

4-15. Производственные штаммы микроорганизмов и штаммы для контроля

Раздел должен содержать следующую информацию: наименование штаммов (на латинском языке в соответствии с международной номенклатурой) и место их депонирования; допустимое количество пассажей и условие их проведения (при необходимости) с указанием субстрата для культивирования; при необходимости - требования к характеристикам штаммов, дополнительные к их паспортным данным.

4-16. Консерванты

При использовании антимикробного консерванта – тиомерсала, определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах». При использовании антимикробного консерванта – фенола, определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола спектрофотометрическим методом в иммунобиологических лекарственных препаратах».

4-17. Извлекаемый объем

Извлекаемый объем должен быть не меньше номинального и *соответствовать* требованиям, указанным в нормативной документации производителя препарата. Определение проводят в соответствии с ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения», если иное не предусмотрено в нормативной документации.

4-18. Растворители, выпускаемые в комплекте с препаратом

В качестве растворителей для лиофилизированных препаратов используют средства, разрешенные к применению при соответствующем пути введения. Указывают вид растворителя и требования к его качеству.

4-19. Срок годности

Срок годности рассчитывается с даты выпуска препарата, если нет других указаний. Для комбинированных вакцин, срок годности определяется компонентом, у которого он истекает первым.

5. ХРАНЕНИЕ

В соответствии с требованиями ОФС/монографии «Хранение лекарственных средств». В упаковке, обеспечивающей стабильность в течение указанного срока годности лекарственного препарата, в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации. Жидкие вакцины и анатоксины должны храниться в условиях, исключающих замораживание.

6. МАРКИРОВКА

На первичной упаковке указывают:

- наименование лекарственного препарата (международное непатентованное, или группировочное, или химическое, или торговое наименование);
- номер серии;
- дата выпуска;
- срок годности;
- дозировка или концентрация;
- объем;

- активность в единицах действия или количество доз;

Наносят надпись: "Для ветеринарного применения".

На вторичной упаковке указывают:

- наименование лекарственного препарата (международное непатентованное, или группировочное, или химическое, или торговое наименование);

- наименование производителя лекарственного препарата;

- номер серии;

- дата выпуска;

- срок годности;

- дозировка или концентрация;

- объем;

- активность в единицах действия или количество доз в упаковке;

- номер регистрационного удостоверения;

- способ применения;

- лекарственную форму;

- условия отпуска;

- условия хранения;

- штриховой код.

Наносят надпись: "Для ветеринарного применения" и предупредительные надписи.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

В соответствии с ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты». В разделе указывают документ, регламентирующий условия и температуру транспортирования; при необходимости указывают продолжительность транспортирования при температуре, отличающейся от указанной в нормативной документации. Жидкие адсорбированные вакцины и анатоксины должны транспортироваться в условиях, исключающих замораживание.