

Настоящая фармакопейная статья распространяется на анатоксин стафилококковый очищенный адсорбированный, суспензия для подкожного введения, который представляет собой токсин стафилококковый, обезвреженный формалином при нагревании, очищенный от балластных белков способом, гарантирующим полную детоксикацию и отсутствие возможности реверсии токсичности при сохранении антигенной и иммуногенной активности, адсорбированный на гидроксиде алюминия или другом разрешенном к применению минеральном адсорбенте.

При подкожном введении анатоксин стафилококковый очищенный адсорбированный вызывает образование специфических антител (антитоксинов) к экзотоксину стафилококковому.

Область применения:

- профилактика стафилококковых инфекций у лиц с повышенным риском заболевания (промышленные и сельскохозяйственные рабочие, подвергающиеся по роду своей деятельности частому травматизму), а также у больных, которым предстоят плановые операции;

- иммунизация доноров с целью получения антистафилококковой плазмы и изготовления антистафилококкового иммуноглобулина.

Производство

При производстве анатоксина стафилококкового очищенного используют штамм *Staphylococcus aureus* 015 (или другой штамм стафилококка, обладающий аналогичными свойствами), который депонирован в официальной коллекции, происхождение и история которого документированы.

При культивировании на жидких питательных средах штамм должен образовывать экзотоксин (синонимы: токсин стафилококковый, альфатоксин, альфастафилолизин). Метод культивирования должен обеспечивать высокую продукцию токсина, сохранять гемолитические свойства штамма и исключать контаминацию штамма посторонней микрофлорой. Токсинсодержащая культуральная жидкость, освобожденная от микробных клеток и продуктов их распада, должна содержать токсин стафилококковый с гемолитической активностью не менее 500 ДНМ (минимальная гемолитическая доза) и иметь Lh (лимит гемолитического действия) токсина не более 0,4 мл. Способ детоксикации токсина стафилококкового должен гарантировать отсутствие токсичности и возможность ее реверсии при сохранении антигенной (не менее 2 ЕС/мл) и иммуногенной (способность вызывать образование специфических антител) активности анатоксина стафилококкового. Последующая концентрация должна обеспечить содержание в 1 мл концентрата не менее 30 ЕС (единиц связывания).

Для производства анатоксина стафилококкового адсорбированного проводят сорбцию полученного концентрированного анатоксина, добавляя необходимое (расчётное) количество гидроксида алюминия. Сорбция должна быть полной.

Для характеристики анатоксина стафилококкового очищенного адсорбированного, суспензии для подкожного введения, определяют: рН, время седиментационной устойчивости, размер частиц, дисперсность, стерильность, аномальную токсичность, специфическую безвредность, специфическую активность, полноту сорбции, содержание формальдегида, адсорбента и консерванта.

Испытания

Описание. Суспензия белого цвета с желтоватым оттенком, разделяющаяся при стоянии на прозрачную надосадочную жидкость и рыхлый осадок, полностью диспергируемый при встряхивании. Определение проводят визуально.

Подлинность. Должен вызывать образование антител к токсину стафилококковому. Определение проводят в соответствии с ОФС "Определение содержания антиальфастафилолизина (специфических антител) в препаратах крови человека и животных".

Извлекаемый объем. Не менее номинального. Нормативные требования указывают в нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС "Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения".

pH. От 6,2 до 7,4 (если нет других указаний в нормативной документации). Определение проводят потенциометрически с неразведенным препаратом в соответствии с ОФС "Ионометрия".

Время седиментационной устойчивости. После встряхивания не должно наблюдаться расслаивания в течение 2,5 мин.

Размер частиц. Должен свободно проходить в шприц через иглу N 0840. Определение проводят в соответствии с ОФС "Лекарственные формы для парентерального применения".

Дисперсность. Показатель дисперсности от 0,6 до 1,4. Определение проводят фотометрически при разведении препарата 1:1 0,9% раствором натрия хлорида в соответствии с указаниями в нормативной документации.

Стерильность. Препарат должен быть стерильным. Определение проводят методом прямого посева в соответствии с ОФС "Стерильность".

Аномальная токсичность. Препарат должен быть нетоксичным.

Белым мышам (5 животным) массой тела 18-20 г препарат вводят внутрибрюшинно по 0,5 мл, 2 морским свинкам массой 250-300 г подкожно по 2 мл.

Препарат считают выдержавшим испытание, если:

- в течение 7 сут. наблюдения все животные остались живы и ни у одного из животных не были выявлены видимые признаки заболевания;

- ни у одного из животных не отмечена потеря массы тела;

- ни у одной морской свинки в месте введения препарата не развился абсцесс или некроз.

Если в течение периода наблюдения регистрируют гибель хотя бы 1 животного, заболевание, уменьшение массы тела или повреждение в месте инъекции, испытание повторяют на удвоенном количестве животных при тех же условиях учета опыта. Повторное испытание считают удовлетворительным, если препарат отвечает вышеперечисленным требованиям.

Специфическая безвредность. Препарат должен быть безвредным.

Кролику массой 2-2,5 кг препарат вводят подкожно по 2,5 мл в оба бока. Препарат считают выдержавшим испытание, если в течение 5 сут. наблюдения кролик остаётся здоровым, и в местах введения препарата отсутствуют явления некроза тканей.

Специфическая активность (иммуногенность). Должен вызывать образование специфических антител при подкожном введении (содержание антиальфастафилолизина (специфических антител)) в сыворотках крови иммунизированных кроликов должно быть не менее 3 МЕ в 1 мл (среднеарифметическое значение).

Кроликам (3 животным) массой (2,0 ± 0,5) кг препарат вводят в объеме 0,5 мл подкожно двукратно с интервалом 17-20 сут. Через 8-10 сут. после последней иммунизации у кроликов берут кровь из краевой вены уха и определяют в сыворотке крови каждого иммунизированного животного содержание антиальфастафилолизина. Определение проводят в соответствии с ОФС "Определение

антиальфастафилолизина (специфических антител) в лекарственных препаратах из сыворотки крови человека и животных".

Примечание.

Для проведения испытаний по показателям "[Специфическая безвредность](#)" и "[Специфическая активность \(иммуногенность\)](#)" используют кроликов, у которых содержится не более 0,125 МЕ антиальфастафилолизина в 1 мл сыворотки крови. Определение проводят в соответствии с ОФС "Определение содержания антиальфастафилолизина (специфических антител) в лекарственных препаратах из сыворотки крови человека и животных".

Полнота сорбции. Сорбция стафилококкового анатоксина должна быть полной. Надосадочная жидкость не должна содержать свободного стафилококкового анатоксина. Допускается наличие в 1 мл надосадочной жидкости не более 0,2 ЕС антиальфастафилолизина (1 ЕС представляет собой минимальное количество анатоксина, которое связывает 1 МЕ (Международная единица) антиальфастафилолизина).

Для постановки реакции используют следующие ингредиенты:

- испытуемый анатоксин стафилококковый;
- стандартный образец (СО) антиальфастафилолизина с установленным содержанием стафилококковых антител (МЕ/мл);
- токсин стафилококковый, гемолитические свойства которого характеризуются величиной Lh (лимит гемолитического действия - минимальное количество токсина стафилококкового, которое, будучи связано с 1 МЕ антиальфастафилолизина, вызывает почти полный (+++) гемолиз эритроцитов кролика);
- 15% взвесь эритроцитов кролика;
- 0,9% раствор натрия хлорида.

Для определения полноты сорбции в 4 пробирки (опытный ряд) наливают надосадочную жидкость испытуемого препарата: в первую пробирку - 1 мл неразведенной надосадочной жидкости, в остальные пробирки вносят по 1 мл надосадочной жидкости, разведенной 0,9% раствором натрия хлорида соответственно в 2, 5, 10 раз. В каждую пробирку добавляют по 1 мл раствора СО антиальфастафилолизина, разведенного до содержания 0,2 МЕ/мл. Пробирки осторожно встряхивают и выдерживают 20 мин при температуре 18-20°C.

Проведение испытания сопровождается 4 контролями:

1. Первый контроль (пробирка N 1) контроль "полноты" нейтрализации Lh токсина стафилококкового в условиях испытания. В пробирку вносят 1 мл СО антиальфастафилолизина, содержащего 0,2 МЕ/мл антиальфастафилолизина и прибавляют 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

2. Второй контроль (пробирка N 2) - контроль отсутствия спонтанного лизиса эритроцитов кролика. В пробирку вносят 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

3. Третий контроль (пробирка N 3) - контроль гемолитического действия токсина стафилококкового в условиях испытания. В пробирку вносят 2 мл 0,9% раствора натрия хлорида.

4. Четвертый контроль (пробирка N 4) - контроль отсутствия лизиса эритроцитов надосадочной жидкостью. В пробирку вносят 2 мл надосадочной жидкости испытуемого образца.

В пробирки опытного ряда и контрольные пробирки N 1 и N 3 добавляют токсин стафилококковый в дозе Lh/10. В контрольные пробирки N 2 и N 4 токсин не добавляют.

Все пробирки встряхивают и выдерживают 20 мин при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Далее в каждую пробирку добавляют по 2 капли (0,1 мл) 15% взвеси эритроцитов, приготовленной в день испытания; пробирки вновь встряхивают и выдерживают в течение 1 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, а затем - 1 ч при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Результаты испытания учитывают визуально по степени гемолиза эритроцитов:

"++++" - полный гемолиз эритроцитов;

"+++ " - почти полный гемолиз эритроцитов;

"++ " - частичный гемолиз (50% гемолиз эритроцитов);

"+" - следы гемолиза эритроцитов;

"-" - отсутствие гемолиза эритроцитов.

Учет результатов испытания начинают с определения результатов контроля.

В первом, втором и четвертом контроле гемолиз эритроцитов должен отсутствовать. Отсутствие гемолиза в первом контроле свидетельствует о том, что 0,2 МЕ антиальфастафилолизина полностью нейтрализовали гемолитическое действие дозы токсина стафилококкового в условиях испытания; отсутствие гемолиза в четвертом контроле свидетельствует о том, что "цельная" неразведенная надосадочная жидкость не вызывает гемолиза эритроцитов кролика; в третьем контроле должен произойти полный гемолиз эритроцитов.

В пробирках опытного ряда признаков гемолиза не должно быть.

Наличие признаков гемолиза в опытном ряду означает присутствие в надосадочной жидкости свободного стафилококкового анатоксина, который связывает антиальфастафилолизин и оставшийся свободным токсин стафилококковый вызывает гемолиз эритроцитов кролика.

Пример расчета: в 1 пробирке опытного ряда (неразведенная надосадочная жидкость) зафиксирован почти полный гемолиз (+++). Это означает, что в 1 мл надосадочной жидкости содержится 0,1 ЕС стафилококкового анатоксина, т.к. 0,1 ЕС стафилококкового анатоксина связался с 0,1 МЕ антиальфастафилолизина, а оставшийся свободным токсин стафилококковый вызвал гемолиз эритроцитов кролика.

Примечание.

Приготовление 15% взвеси эритроцитов кролика и определение Lh токсина в условиях испытания проводят в соответствии с ОФС "Определение содержания антиальфастафилолизина (специфических антител) в лекарственных препаратах из крови человека и животных".

Производственный штамм. Раздел должен содержать следующую информацию: наименование штамма(ов); место депонирования; морфологическую характеристику; при необходимости - допустимое количество пассажей и методику их проведения с указанием субстрата и условий культивирования; дополнительные к паспортным данным требования к характеристикам штаммов.

Формальдегид. Не более 30 мкг/мл. Испытание проводят по ОФС "Количественное определение формальдегида в иммунобиологических лекарственных препаратах".

Консерванты. Тиомерсал (если нет других указаний в нормативной документации). Содержание тиомерсала должно быть от 80 до 120 мкг/мл. Испытание проводят по ОФС "Количественное определение тиомерсала в иммунобиологических лекарственных препаратах".

Сорбенты. Алюминия гидроксид (если нет других указаний в нормативной документации). Содержание ионов алюминия должно быть от 0,9 до 1,3 мг/мл. Испытание проводят по ОФС "Определение ионов алюминия в сорбированных иммунобиологических лекарственных препаратах".

Показатели, которые отражают качество конечного продукта, но не могут быть определены, должны быть определены на промежуточных стадиях производства, что также должно быть указано в нормативной документации.

Упаковка и маркировка. В соответствии с ОФС "Имунобиологические лекарственные препараты".

Транспортирование и хранение. При температуре от 2 до 8°C. Замораживание не допускается.

