

5.2.11. БІЛКИ-НОСІЇ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА КОН'ЮГОВАНИХ ПОЛІСАХАРИДНИХ ВАКЦИН ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЛЮДИНОЮ

Використання альтернативних білків-носіїв, методів виробництва та випробувань є прийнятним за наявності дозволу уповноваженого органу.

Бактеріальні полісахариди не здатні індукувати Т-залежну імунну відповідь В-клітин, яка необхідна для отримання відповіді імунологічної пам'яті, і зазвичай слабоімуногенні для дітей молодше 2 років. Ці обмеження долаються кон'югуванням полісахаридів із білками-носіями. Білки-носії є високоімуногенними і, кон'югуючи з бактеріальними полісахаридами, посилюють їх здатність індукувати захисну реакцію в немовлят.

Білки-носії, які тепер використовують у полісахаридних вакцинах для застосування людиною, — це анатоксини, нетоксичні мутовані токсини, поверхневі білки або білки зовнішніх мембран мікроорганізмів. Мікроорганізми, які використовують для виробництва білків, можуть бути генетично модифіковані.

Потрібно підтвердити, що спосіб виробництва білків-носіїв забезпечує одержання стабільних за складом партій/серій білків-носіїв, придатних для кон'югації з полісахаридним антигеном.

Можуть бути встановлені відповідні критерії прийнятності для забезпечення низького рівня біозабруднення перед кон'югацією з полісахаридом. Обов'язковою умовою перед зберіганням є фільтрація білка-носія крізь фільтри, що утримують бактерії, і дотримання відповідних заходів безпеки, щоб уникнути забруднення і росту мікроорганізмів під час зберігання.

Виробництво білків-носіїв засноване на системі посівних серій. Придатними методами з відповідною чутливістю має бути підтверджено, що посівні серії вільні від забруднення. Культура може бути інактивована, а білок-носії очищений придатним методом.

Білок характеризують одним або кількома придатними методами (ДСН-ПАГ (SDS-PAGE), ізоелектричне фокусування, ВЕРХ, ексклюзійна хроматографія з багатокутним детектуванням розсіяння лазерного випромінювання (MALLS), амінокислотний аналіз, амінокислотне секвенування, циркулярний дихроїзм, флуоресцентна спектроскопія, пептидне картування і мас-спектрометрія), чистоту білка підтверджують придатним методом. Де це застосовується, під час валідації або рутинних випробувань проводять придатні випробування для підтвердження того, що лікарський засіб вільний від специфічних токсинів. За наявності стадій очищення для вста-

новлення відтворюваності процесів очищення контролюють зниження вмісту певних пов'язаних із процесом домішок, а також їх залишкових кількостей. У випадку рекомбінантних білків-носіїв також проводять випробування щонайменше на такі домішки:

- залишкові кількості білків клітини-хазяїна, включно з білками, похідними вектора експресії;
- залишкові кількості клітинної ДНК.

Тільки білок-носії, який відповідає вимогам наведених нижче випробувань, може бути використаний у виготовленні кон'югата.

Ідентифікація. Білок-носії ідентифікують придатним методом.

pH (2.2.3). Де це застосовується, перевіряють рН білка-носія перед кон'югацією, і це значення має бути в межах, затверджених для конкретного лікарського засобу.

Вміст білка (2.5.16). Вміст білка-носія визначають придатним методом, і він має бути в межах, затверджених уповноваженим органом.

Бактеріальні ендотоксини (2.6.14). Рівень бактеріальних ендотоксинів має бути в межах, затверджених для конкретного лікарського засобу.

Крім того, до білків-носіїв застосовують наведені нижче вимоги.

Дифтерійний анатоксин. Дифтерійний анатоксин виробляють відповідно до монографії «Вакцина для профілактики дифтерії (адсорбована)», і він має відповідати вимогам до нерозфасованого очищеного анатоксину, за винятком випробування на стерильність (2.6.1), яке не вимагається.

Правцевий анатоксин. Правцевий анатоксин виробляють відповідно до монографії «Вакцина для профілактики правця (адсорбована)», і він має відповідати вимогам до нерозфасованого очищеного анатоксину, за винятком вимог до антигенної чистоти, яка має бути не менше 1500 Lf на міліграм білкового азоту; випробування на стерильність (2.6.1) не обов'язкове.

Дифтерійний білок CRM 197. Білок може бути одержаний із культури генетично модифікованого (C7/β197) або генетично немодифікованого (mCRM) *Corynebacterium diphtheriae* чи одержаний технологією рекомбінантної ДНК у таких організмах, як *Escherichia coli*. Надосадова рідина може бути концентрована ультрафільтрацією та очищена послідовними стадіями осадження, фільтрування та хроматографування. У разі виготовлення дифтерійного білка CRM 197 на тих самих виробничих ділянках, що й дифтерійний токсин, його потрібно відрізнити від