2.1.11.31. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ГЕПАТИТА А

Количественное определение антигенной активности вакцины для профилактики гепатита А проводится *in vitro* методом иммунохимического определения содержания антигена (метод 1) или *in vivo* методом определения иммуногенной активности путем сравнения ее способности индуцировать в данных условиях выработку специфических антител у мышей с такой же способностью стандартного образца (метод 2).

МЕТОД 1. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO*

Содержание антигена вируса гепатита А определяют иммунохимическим методом (*Номер. 2.7.1*).

Для количественного определения можно применять метод твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител, специфичных в отношении эпитопа гепатита А, который индуцирует нейтрализующие антитела.

Для испытания используют подходящее количество разведений испытуемого образца и стандартного образца. Содержание антигена вируса гепатита А рассчитывают с помощью статистических методов (*2.3.12.0*).

В лекарственном препарате содержание антигена вируса гепатита А должно находиться в пределах установленных критериев приемлемости.

В качестве стандартного образца может использоваться *СО ФЕАЭС вакцины для профилактики гепатита А (инактивированной, не адсорбированной),* калиброванный в международных единицах.

МЕТОД 2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VIVO*

В настоящей общей фармакопейной статье представлен пример одной из методик испытания на мышах. Метод основан на определении дозы вакцины, вызывающей образование антител к вирусу гепатита А у 50 % мышей. Также можно использовать другие валидированные методики.

Выбор и распределение животных. В испытании используют здоровых мышей одного пола, подходящей линии, в том числе аутбредных, из одной партии (стока) возрастом около 5 недель. Животных распределяют не менее чем на 7 равных групп, в количестве, подходящем для выполнения требований испытания.

Определение активности испытуемого образца. Готовят не менее трех разведений испытуемого образца и соответствующие разведения стандартного образца с использованием раствора 9 г/л *натрия хлорида Р,* содержащего алюминиевый адъювант, используемый в вакцине. Каждое из разведений назначают одной из групп мышей; каждому животному в группе вводят подкожно не более 1,0 мл разведения, назначенного данной группе животных. Контрольной невакцинированной группе мышей вводят подкожно такой же объем растворителя. Через 28–32 сут всех животных анестезируют и производят забор крови. Готовят сыворотки и хранят отдельно друг от друга. В каждом образце сыворотки с помощью подходящего иммунохимического метода (*Номер. 2.7.1*) количественно определяют содержание антител, специфичных по отношению к вирусу гепатита А.

Расчеты. Вычисления проводят с помощью статистических методов, предназначенных для количественных определений с качественным (альтернативным) типом ответов (*2.3.12.0*).

На основании распределения уровней реакции, определённых во всех сыворотках группы невакцинированных животных, вычисляют максимальный уровень реакции, который можно ожидать у невакцинированных животных для данного испытания. Любой иммунный ответ в группе вакцинированных животных, превышающий данный уровень, является по определению сероконверсией.

Проводят подходящее преобразование (например, пробит-преобразование) процентной численности животных с сероконверсией в каждой из групп и анализируют данные с помощью модели параллельных прямых логарифмической зависимости доза-отклик. Активность испытуемого образца определяют относительно стандартного образца.

Критерии достоверности. Результаты испытания являются достоверными, если:

- ED_{50} как для испытуемого образца, так и для стандартного образца находится в пределах от наименьшей до наибольшей дозы, вводимой животным;
- статистический анализ подтверждает отсутствие значимых отклонений в линейности и параллельности;
- доверительный интервал (P = 0,95) относительной активности составляет не менее 33 % и не более 300 % от установленной активности.

Требования для относительной активности. Верхняя граница доверительного интервала (P = 0,95) вычисленной относительной активности должна быть не менее 1,0.