2.3.19.13. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ И ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЕ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на группу лекарственных препаратов иммуноглобулинов и иммунных сывороток гетерологичных, содержащих очищенные иммуноглобулины и (или) их фрагменты, полученные из плазмы или сыворотки крови иммунизированных животных. Иммуноглобулины и иммунные сыворотки гетерологичные содержат специфические антитела, нейтрализующие или связывающие антигены, применяемые для иммунизации животных. В качестве антигенов могут быть использованы бактериальные или другие токсины, бактериальные или вирусные антигены, яды (змей, пауков, скорпионов), антигены человека (например, лимфоцитарные). В зависимости от количества антигенов различают моновалентные и поливалентные сыворотки. Поливалентные сыворотки получают иммунизацией животного несколькими видами антигенов или объединением нескольких моновалентных сывороток.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов и иммунных сывороток гетерологичных представлены, как правило, в виде лекарственных форм растворы, концентраты и лиофилизаты, предназначенных для внутривенного, внутримышечного, интратекального, подкожного, внутрикожного введения, если необходимо после соответствующего разведения.

ПРОИЗВОДСТВО

Основные положения

Производственный процесс должен обеспечивать получение однородной иммунной плазмы или сыворотки с приемлемой безопасностью, эффективностью и стабильностью.

Любые реактивы и материалы биологического происхождения, применяемые в производственном процессе, не должны быть контаминированы бактериями, грибами и вирусами. Производство должно соответствовать требованиям общей фармакопейной статьи *2.3.1.3. Вирусная безопасность,* в сочетании с более специфичными требованиями, представленными в данной общей фармакопейной статье. Производственный процесс должен содержать стадию или стадии удаления и (или) инактивации известных инфекционных агентов.

Производственный процесс должен быть валидированным, воспроизводимым и эффективным, не снижающим биологическую активность иммуноглобулинов и иммунных сывороток.

Стандартный образец. В качестве стандартного образца для испытания на содержание белков с высокой молекулярной массой и для испытания на чистоту используют *с*ерию препарата с доказанной стабильностью и эффективностью в клинических исследованиях, или репрезентативную ей серию.

Животные-продуценты

Используют здоровых животных-продуцентов, виды которых одобрены уполномоченным органом, предназначенных исключительно для производства иммуноглобулинов или иммунных сывороток. Животные должны поступать из мест разведения (питомников, ферм), регулярно подвергающихся аудитам и находящихся под контролем уполномоченных органов. Каждое животное при поступлении должно быть обследовано для подтверждения отсутствия патогенных возбудителей и далее находиться под тщательным ветеринарным наблюдением в отношении определенных инфекционных агентов, перечисленных в утвержденном перечне, в том числе, возбудителей заболеваний, специфичных для мест разведения животных.

Животные-продуценты, поступающие в питомники закрытого типа, должны пройти карантин, во время которого необходимо организовать мониторинг состояния животных, включая ветеринарное наблюдение, проведение серологических исследований по обнаружению антигенов и (или) антител, являющихся маркерами вирусных, бактериальных или паразитарных инфекций у животных. Используемые корма должны поступать из контролируемых источников и не должны содержать белки животного происхождения. В зависимости от географического расположения мест разведения и выращивания животных (питомников, ферм), если применимо, проводят дополнительные исследования на патогенные инфекционные агенты.

Животные, которые подверглись лечению антибиотиками, могут быть использованы для получения плазмы или сыворотки только после периода времени, необходимого для полного выведения антибиотика из организма. Антибиотики пенициллинового ряда не должны применяться для лечения животных-продуцентов.

Иммунизация животных-продуцентов

Антигены, используемые для иммунизации животных, должны быть охарактеризованы и идентифицированы по наименованию и номеру серии. Необходимо подтверждение отсутствия посторонних инфекционных агентов, если применимо.

Документируют информацию об источнике и методах получения, требования к качественным характеристикам антигена.

Перед началом иммунизации животных изолируют не менее чем на 7 суток, затем в соответствии с установленным графиком осуществляют бустерные инъекции антигена (антигенов) через определённые промежутки времени. Допускается использование адъювантов. В каждом цикле иммунизации проводят ветеринарное наблюдение за животными и регулярно контролируют выработку специфических антител. Если у животных выявляют патологические изменения, не связанные с иммунизацией, использование всех животных в данной группе приостанавливают до установления отсутствия влияния их использования на безопасность и эффективность лекарственного препарата. При иммунизации животных живыми микроорганизмами между последней иммунизацией и сбором крови или плазмы должен быть выдержан период времени, достаточный для элиминации введённых микроорганизмов.

Сбор крови или плазмы

Сбор крови или плазмы проводят в асептических условиях в помещении, изолированном от места содержания и разведения животных, а также от помещения, в котором проводят очистку иммунных сывороток. Место прокола выбривают, очищают и дезинфицируют. Животных можно подвергать анестезии при отсутствии её влияния на качество лекарственного препарата. При отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченного органа, может быть добавлен антимикробный консервант. Если плазму или сыворотку необходимо хранить в течение определенного периода времени перед дальнейшей переработкой, принимают меры по предупреждению микробной контаминации. Допускается объединение нескольких отдельных образцов плазмы или сыворотки до стадии очистки.

Для отдельных или объединённых образцов проводят следующие испытания:

Испытание на вирусную контаминацию. Если в плазму или сыворотку добавляют антимикробный консервант, то перед проведением испытания его нейтрализуют, либо испытание проводят на образце, взятом до добавления антимикробного консерванта. Каждый пул плазмы или сыворотки проверяют на вирусную контаминацию с помощью соответствующих методов *in vitro,* например, путём инокуляции культур клеток, способных определить широкий спектр вирусов, характерных для конкретного образца.

А**ктивность.** Испытание проводят биологическим методом в соответствии с указаниями в частной фармакопейной статье и выражают в Международных единицах (МЕ) на миллилитр, если применимо, или в других единицах активности. Допустимо использование валидированного метода *in vitro*.

Содержание белка. Разводят испытуемый образец раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации около 15 мг белка в 2 мл. В круглодонную центрифужную пробирку помещают 2 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл раствора 75 г/л *молибдата натрия Р* и 2 мл смеси *серной кислоты, свободной от азота Р* и *воды Р* (1:30, *об/об*), встряхивают и центрифугируют в течение 5 мин. Удаляют надосадочную жидкость и переворачивают пробирку на фильтровальную бумагу для высушивания. Определяют азот в остатке в соответствии с общей фармакопейной статьёй *2.1.5.9. Определение азота после минерализации серной кислотой* и рассчитывают содержание белка, умножая значение на 6,25. Содержание белка должно находиться в пределах, указанных в частной фармакопейной статье.

Допустимо проведение испытания количественного определения белка в соответствии с общей фармакопейной статьей *2.1.5.14 Общий белок, метод 5*.

Очистка и вирусная инактивация иммуноглобулиновой фракции

Иммуноглобулины концентрируют и очищают фракционным осаждением, хроматографией, иммуноадсорбцией и другими физическими или химическими методами. Иммуноглобулины могут быть дополнительно подвергнуты ферментативной обработке. Производственный процесс должен быть организован таким образом, чтобы на всех стадиях избежать контаминации и образования белковых агрегатов, влияющих на иммунобиологические свойства лекарственного препарата. Используемые методы очистки должны обеспечивать получение иммуноглобулиновой фракции без компонентов, влияющих на качество и безопасность лекарственного препарата. Если иное не обосновано и не разрешено уполномоченным органом, для удаления и (или) инактивации вирусов применяют валидированные процедуры. Процедуры выбирают таким образом, чтобы предотвратить образование полимеров или агрегатов, а также минимизировать расщепление $F(ab')_2$-фрагментов на Fab' фрагменты (если лекарственный препарат не должен состоять из Fab'-фрагментов).

После очистки, удаления и (или) инактивации вирусов к промежуточному продукту может быть добавлен стабилизатор, для обеспечения хранения в течение определённого периода с учётом данных о стабильности. Для приготовления готового нерасфасованного продукта может быть использован только промежуточный продукт, соответствующий приведенному ниже требованию.

Чистота. Испытание проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле в невосстанавливающих условиях в соответствии с общей фармакопейной статьёй *2.1.2.30. Электрофорез* в сравнении со стандартным образцом. На электрофореграмме полосы

испытуемого образца по интенсивности должны быть сопоставимы с полосами стандартного образца, дополнительные полосы должны отсутствовать.

Если в процессе производства иммунных сывороток не предусмотрены меры по инактивации вирусов, сыворотку следует подвергать контролю на вирусную безопасность.

Готовый нерасфасованный продукт

Готовый нерасфасованный продукт получают из одного промежуточного продукта или пула промежуточных продуктов, полученных от животных одного вида. Допустимо объединение в пул промежуточных продуктов с различной специфичностью. Допустимо добавление антимикробного консерванта и стабилизатора. Если антимикробный консервант был добавлен в кровь или плазму, тот же консервант используют в готовом нерасфасованном продукте.

Для производства лекарственного препарата может быть использован только готовый нерасфасованный продукт, который соответствует следующим требованиям.

Антимикробный консервант. Содержание консерванта должно быть не менее 85 % и не более 115 % от заявленного количества. Если применимо, определяют содержание консерванта подходящим физико-химическим методом.

Стерильность. Должен выдерживать испытание на стерильность (*2.1.6.1*).

Лекарственный препарат

Готовый нерасфасованный продукт помещают в стерильные упаковки с контролем первого вскрытия в асептических условиях. Упаковки укупоривают таким образом, чтобы предотвратить контаминацию.

К выпуску лекарственного препарата допускают серию, соответствующую требованиям, приведенным в разделах *Идентификация, Испытания и Количественное определение.* Если качество готового нерасфасованного продукта подтверждено испытаниями на осмоляльность, содержание белка, молекулярно-массовое распределение, антимикробный консервант, стабилизатор, чистоту, посторонние белки и количественное определение, данные испытания можно не проводить при выпуске лекарственного препарата.

Лекарственный препарат восстанавливают в соответствии с указаниями на этикетке непосредственно перед проведением идентификации, испытаний (за исключением испытаний *Время растворения* и *Вода*) и количественного определения.

СВОЙСТВА

Иммуноглобулины и иммунные сыворотки гетерологичные представляют собой прозрачные или опалесцирующие жидкости, от бесцветного до светло-жёлтого цвета. Лекарственные препараты в форме лиофилизатов представляют собой белые или

желтоватые порошки или рыхлую массу. После растворения лиофилизаты имеют те же характеристики, что и лекарственные препараты в лекарственной форме растворы или концентраты.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Подлинность устанавливают иммунохимическими методами и, при необходимости, путем установления биологической активности. Для подтверждения подлинности также используют количественное определение.

ИСПЫТАНИЯ

Время растворения (*2.1.9.21*). Лекарственные препараты в виде лиофилизатов должны полностью растворяться в указанном объёме растворителя в течение времени, указанного в нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Извлекаемый объём (*2.1.9.9*)**.** Лекарственные препараты в жидкой лекарственной форме должны выдерживать требования испытания на извлекаемый объём.

pH (*2.1.2.3*). Лекарственный препарат должен соответствовать требованиям, указанным в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Осмоляльность (*2.1.2.32*). Не менее 240 мОсмоль/кг, при отсутствии других указаний в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Содержание белка. От 90 % до 110 % от заявленного количества. При отсутствии другого обоснования и разрешения, уполномоченного органа, количество белка должно быть не более 100 г/л.

Разводят испытуемый образец раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации около 15 мг белка в 2 мл. В круглодонную центрифужную пробирку помещают 2 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл раствора 75 г/л *молибдата натрия Р* и 2 мл смеси *серной кислоты, свободной от азота Р* и *воды Р* (1:30, *об/об*), встряхивают, центрифугируют в течение 5 мин. Удаляют надосадочную жидкость и переворачивают пробирку на фильтровальную бумагу для высушивания. Определяют азот в остатке в соответствии с общей фармакопейной статьёй *2.1.5.9. Определение азота после минерализации серной кислотой* и рассчитывают содержание белка, умножая полученное значение на 6,25.

Допустимо проведение испытания количественного определения белка в соответствии с общей фармакопейной статьей *2.1.5.14 Общий белок, метод 5*.

Молекулярно-массовое распределение. Определение проводят методом жидкостной хроматографии (*2.1.2.28* или *2.1.2.29*).

Антимикробный консервант. Не менее 85 % и не более 115 % от заявленного количества. Если применимо, определяют содержание консерванта подходящим физико-химическим методом.

Фенол (*номер*)**.** Не более 2,5 г/л. Испытание проводят для препаратов, содержащих фенол.

Стабилизатор. Не менее 80 % и не более 120 % от заявленного количества. Если применимо, определяют содержание стабилизатора подходящим физико-химическим методом.

Чистота. Испытание проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле в невосстанавливающих условиях (*2.1.2.30*) в сравнении со стандартным образцом. На электрофореграмме испытуемого образца дополнительные полосы должны отсутствовать.

Посторонние белки. Должны обнаруживаться только белки животного – продуцента, если нет других указаний, например, при использовании в производстве материала человеческого происхождения. Испытание проводят методом иммунопреципитации со специфическими антисыворотками (*номер. Иммунохимические методы*).

Альбумин. Не более 3 % в испытании методом электрофореза, при отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченным органом.

Вода (*2.1.5.12*)**.** Не более 3 %.

Стерильность (*2.1.6.1*)**.** Должен выдерживать требования испытания на стерильность.

Пирогенность (*2.1.6.2*)**.** При отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченного органа проводят испытание лекарственного препарата на пирогенность**.** Тест-доза составляет 1 мл на кг массы тела кролика, если иное не указано в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата. Лекарственный препарат должен выдерживать испытание на пирогенность.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят биологическим методом с использованием стандартного образца и выражают результаты в Международных единицах (МЕ) на миллилитр (если применимо). Также возможно использовать валидированный метод *in vitro*.

ХРАНЕНИЕ В защищённом от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С, если иное не указано в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата. Не допускается замораживание лекарственных препаратов в лекарственных формах растворы и концентраты. Срок годности отсчитывают от начала проведения количественного определения.

МАРКИРОВКА На этикетке указывают:

- количество Международных единиц на миллилитр, если применимо;
- содержание или концентрация белка в первичной упаковке;
- для лиофилизированных лекарственных препаратов:
  - наименование и объём добавляемого растворителя (если применимо);
  - указание, что лекарственный препарат должен быть использован сразу после растворения;
  - срок годности, за исключением первичных упаковок объёмом менее 1,0 мл, упакованных в индивидуальную вторичную упаковку; срок годности может быть не указан на этикетке первичной упаковки при условии, что он указан на вторичной упаковке, а этикетка на вторичной упаковке указывает, что первичная упаковка должна храниться во вторичной упаковке до тех пор, пока она не потребуется применение лекарственного препарата.
  - наименование и количество антимикробного консерванта, стабилизатора и любого другого вспомогательного вещества.