2.3.19.14. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ ЧЕЛОВЕКА

Общая фармакопейная статья распространяется на группу лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека, содержащих иммуноглобулины (Ig), преимущественно класса G (IgG), выделенные из плазмы крови человека. Могут присутствовать и другие белки плазмы крови человека.

Данная общая фармакопейная статья не распространяются на лекарственные препараты, состоящие из фрагментов IgG или химически модифицированных IgG.

Иммуноглобулины человека получают из плазмы крови здоровых доноров, которая должна отвечать требованиям к плазме для фракционирования соответствующей общей фармакопейной статьи.

В зависимости от специфичности антител различают лекарственные препараты иммуноглобулинов человека

– нормальные, которые содержат антитела различной специфичности, присущие плазме крови здоровых доноров и отражающие гуморальный популяционный иммунитет,

– специфические, для которых характерно определенное (повышенное) содержание антител к соответствующему антигену,

– противоаллергический иммуноглобулин, для которого характерна противоаллергическая активность,

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека представлены, как правило, в виде следующих лекарственных форм:

- растворы (для инфузий, для внутривенного, внутримышечного или подкожного введения);
- лиофилизаты для приготовления растворов для внутривенного, внутримышечного, подкожного введения и для приема внутрь.

Иммуноглобулины человека могут входить в состав комплексных биологических лекарственных препаратов.

ПРОИЗВОДСТВО

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека нормальных получают из пула плазмы крови не менее 1000 здоровых доноров методами с доказанной эффективностью выделения фракции иммуноглобулина *G*. Для специфических иммуноглобулинов и иммуноглобулинов специального назначения количество доноров не ограничено. Производство препаратов иммуноглобулинов человека должно быть валидировано с целью подтверждения стабильности произведенных серий, сопоставимых с сериями, имеющими доказанную клиническую эффективность и безопасность. Производственный процесс должен гарантировать сохранение структуры и функции белков иммуноглобулинов, имеющих определенное, характерное для нативной плазмы здоровых доноров, распределение подклассов *IgG*, достаточную степень концентрации антител и обеспечивать безопасность лекарственных препаратов, связанную с остаточным содержанием таких компонентов плазмы крови человека, как гемагглютинины, анти-D антитела, факторы свертывания крови и др.

Производственный процесс должен включать этап или этапы, обеспечивающие удаление и(или) инактивацию известных инфекционных возбудителей. Если для вирусной инактивации используют химические вещества, должно быть установлено, что любое их остаточное количество в лекарственном препарате не оказывают неблагоприятного воздействия на пациентов, получающих лекарственный препарат иммуноглобулина.

Производственный процесс должен обеспечивать получение лекарственного препарата, который:

– безопасен в отношении передачи гемотрансмиссивных инфекций;

– при концентрации белка 50 г/л содержит антитела в концентрации, не менее чем в 3 раза превышающей концентрацию в исходном пуле плазмы, а при концентрации белка 100 г/л – не менее чем в 6 раз; определяют содержание антител не менее чем к двум возбудителям (одному вирусному и одному бактериальному) с использованием международного стандартного образца или другого подходящего стандартного образца;

– имеет определенное, характерное для нативной плазмы здоровых доноров, распределение подклассов IgG.

Дополнительные специфические требования к производству лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения и подкожного введения, включая внутрипроизводственный контроль качества в процессе производства, должны обеспечивать получение лекарственного препарата, который:

соответствует испытанию на функциональное состояние Fc-фрагмента иммуноглобулина (ОФС «Определение функционального состояния Fc-фрагмента иммуноглобулина»);

не проявляет тромбогенной (прокоагулянтной) активности.

Производственный процесс лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения и подкожного введения должен включать этап или этапы элиминации компонентов плазмы крови, вызывающих тромбоз. Особое внимание необходимо уделять идентификации активированных факторов свёртывания крови и соответствующим проферментам (зимогенам), а также этапам производственного процесса, которые могут вызвать их активацию. Следует учитывать другие прокоагулянты, которые могут быть добавлены в процессе производства.

Допускается добавление вспомогательных веществ, таких как стабилизаторы.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека не должны содержать антибиотиков.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека для внутримышечного введения в многодозовой упаковке могут содержать антимикробный консервант.

Стабильность лекарственного препарата должна быть подтверждена соответствующими испытаниями, проведёнными при фармацевтической разработке.

ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ

Лекарственный препарат должен отвечать указанным ниже требованиям (если применимо), а также требованиям соответствующей частной фармакопейной статьи.

При соответствующем обосновании и разрешении уполномоченного органа следующие испытания могут быть выполнены на готовом нерасфасованном продукте:

Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) (*2.1.6.10*). Должен отсутствовать. Испытание проводят с использованием коммерчески доступных тест-систем, разрешённых к применению и имеющих чувствительность не ниже 0,1 МЕ/мл.

Антитела к вирусу гепатита С (*2.1.6.10*). Должны отсутствовать. Испытание проводят с использованием коммерчески доступных тест-систем, разрешённых к применению.

Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген p24 ВИЧ-1 (*2.1.6.10*). Должны отсутствовать. Испытание проводят с использованием коммерчески доступных тест-систем, разрешённых к применению.

СВОЙСТВА

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека представляют собой прозрачные или опалесцирующие жидкости, от бесцветного до бледно-желтого цвета. Лекарственные препараты в форме лиофилизатов, как правило, представляют собой белые или слегка желтоватые порошки или рыхлую гигроскопичную массу. После растворения лиофилизаты имеют те же характеристики, что и лекарственные препараты в лекарственной форме растворы.

Лекарственный препарат в форме лиофилизата восстанавливают в соответствии с указаниями непосредственно перед проведением идентификации, испытаний (за исключением испытаний *Время растворения, Вода* или *Потеря в массе при высушивании*).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Испытания проводят подходящим методом иммуноэлектрофореза *номер Иммунохимические методы.* Разводят сыворотку крови человека и испытуемый лекарственный препарат до концентрации белка 10 г/л. Подлинность подтверждают наличием основного компонента, соответствующего IgG сыворотки крови человека. Лекарственный препарат может содержать небольшое количество других белков плазмы крови человека (за исключением альбумина человека добавленного в качестве стабилизатора в лекарственный препарат и относящегося к основным компонентам).

ИСПЫТАНИЯ

Время растворения *(2.1.9.21)* Лекарственные препараты в форме лиофилизатов должны полностью растворяться в указанном объеме растворителя в течение времени, указанного в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Прозрачность *(2.1.2.1).* При отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченного органа проводят испытание лекарственного препарата на прозрачность. Лекарственный препарат (при необходимости после восстановления) должен соответствовать требованиям, указанным в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Цветность *(2.1.2.2).* При отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченного органа проводят испытание лекарственного препарата на цветность. Лекарственный препарат (при необходимости после восстановления) должен соответствовать требованиям, указанным в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

pH *(2.1.2.3).* Лекарственные препараты (при необходимости после восстановления) должны соответствовать требованиям, указанным в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека для внутримышечного введения: от 5,0 до 7,2.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека для подкожного введения: от 4,6 до 7,2.

Лекарственные препараты иммуноглобулинов человека для внутривенного введения: от 4,0 до 7,4.

Испытуемый образец разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка 10 г/л.

Видимые механические включения (*номер Видимые механические включения в лекарственных препаратах*). Лекарственный препарат должен выдерживать требования испытания на видимые механические включения.

Извлекаемый объем *(2.1.9.9.).* Лекарственный препарат в жидкой лекарственной форме должен выдерживать требования испытания на извлекаемый объем.

Осмоляльность *(2.1.2.32*). Не менее 240 мОсмоль/кг. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения.

Содержание белка. От 90 до 110 % от заявленного количества.

Для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутримышечного введения содержание белка должно быть не менее 100 г/л и не более 180 г/л.

Для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для подкожного введения содержание белка должно быть не менее 100 г/л и не более 220 г/л.

Для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения содержание белка должно быть не менее 30 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 *натрия молибдата 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 осадке в соответствии с общей фармакопейной статьей *2.1.5.9. Определение азота после минерализации серной кислотой* и рассчитывают содержание белка, умножая полученное значение на 6,25.

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

Состав белка. Испытание проводят методом зонального электрофореза *(2.1.2.30)*.

В качестве носителя используют подходящие плёнки из ацетата целлюлозы или агарозного геля, а в качестве электролита – *барбиталовый буферный раствор pH 8,6 P1* или другой подходящий буферный раствор.

Если в качестве носителя используют ацетат целлюлозу, испытание может быть проведено представленной ниже методикой. Если используют агарозные гели, являющиеся частью автоматизированной системы, то следуют инструкциям производителя.

Испытуемый раствор. Испытуемый образец разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка 30 г/л.

Раствор сравнения. Восстанавливают *СО ФЕАЭС иммуноглобулин человека для электрофореза* и разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка 30 г/л.

Контрольный раствор. Нормальная сыворотка крови человека.

На анодный/катодный край плёнки из ацетата целлюлозы наносят 4,0 мкл испытуемого раствора полосой шириной 10 мм или, если используется более узкая плёнка из ацетата целлюлозы, 0,4 мкл/мм; тот же объем раствора сравнения и тот же объем контрольного раствора. Помещают в электрическое поле таким образом, чтобы расстояние, пройденное полосой альбумина сыворотки крови человека контрольного раствора, составляло не менее 30 мм. Затем плёнку из ацетата целлюлозы окрашивают раствором *амидо-черного 10В Р* в течение 5 мин и обесцвечивают смесью *уксусной кислоты ледяной Р* и *метанола Р* в соотношении 10:90 (*об/об*), чтобы фон стал прозрачным. При необходимости снижают интенсивность окраски полос смесью *уксусной кислоты ледяной Р* и *метанола Р* в соотношении 19:81 *(об/об).* Измеряют оптическую плотность при 600 нм *(2.1.2.24)* или сканируют полосы при 600 нм. Рассчитывают результат как среднее значение трех измерений каждой полосы.

Результаты испытания считают достоверными, если на электрофореграмме испытуемого раствора любая полоса, кроме основной полосы, не более интенсивна, чем соответствующая полоса на электрофореграмме раствора сравнения.

Допустимо проведение испытания методом капиллярного электрофореза *(2.1.2.37).*

Молекулярно-массовое распределение (*2.1.2.29*). Используют метод внутренней нормализации.

Испытуемый раствор. Лекарственный препарат разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка в растворе, подходящей для используемой хроматографической системы (для иммуноглобулинов человека рекомендуемая концентрация белка в растворе должна составлять от 4 г/л до 12 г/л).

Раствор сравнения. Разводят *СО ФЕАЭС иммуноглобулин человека (молекулярные параметры)* раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* для достижения концентрации белка, соответствующей концентрации белка в испытуемом растворе.

Условия хроматографирования:

– *колонка*: длиной 0,6 м/0,3 м и внутренним диаметром 7,5 мм/7,8 мм, заполненная *силикагелем гидрофильным для хроматографии Р*, пригодным для фракционирования глобулярных белков с относительными молекулярными массами от 10000 до 500000;

– *температура колонки*: 25 °С;

– *подвижная фаза*: растворяют 4,873 г *динатрия гидрофосфата дигидрата Р*, 1,741 г *натрия дигидрофосфата моногидрата Р*, 11,688 г *натрия хлорида Р* и 50 мг *натрия азида Р* в 1000 мл *воды Р*;

– *скорость подвижной фазы*: 0,5 мл/мин;

– *детектор*: спектрофотометрический, длина волны 280 нм.

Идентификация пиков: используют хроматограмму раствора сравнения. Любой пик, относительное время удерживания которого менее 0,85, соответствует полимерам и агрегатам; любой пик со временем удерживания больше, чем у мономера, соответствует фрагментам.

Относительное удерживание. Мономер - 1; димер - около 0,85.

На хроматограмме испытуемого раствора относительное время удерживания пиков мономера и димера по отношению к относительному времени удерживания соответствующих пиков на хроматограмме раствора сравнения должно составлять 1±0,02.

Антикомплементарная активность (*номер*). Допустимый предел связывания комплемента – не более 1 CH_{50}/мг белка, т.е. 1 мг белка иммуноглобулина не должен связывать более 1 CH_{50} комплемента. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения.

Активатор прекалликреина (*номер*). Не более 35 МЕ/мл. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения.

Анти-А и анти-В гемагглютинины (*номер*). Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного и подкожного введения. Должен выдерживать требования испытания на анти-А и анти-В гемагглютинины.

Анти-D антитела (*номер*). Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного и подкожного введения (кроме иммуноглобулина человека антирезус $Rh_0(D)$). Должен выдерживать требования испытания на анти- D антитела.

Иммуноглобулин А. Определяют подходящим иммунохимическим методом. Содержание иммуноглобулина А не должно превышать максимальное содержание, указанное на упаковке. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для парентерального применения.

Вода (*2.1.5.12* или *2.1.2.34*) или **Потеря в массе при высушивании** (*2.1.2.31*). Не более 3 %, если иное не указано в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека в лекарственной форме лиофилизата.

Антитела к вирусу гепатита А (*номер Иммунохимические методы*). Если лекарственный препарат предназначен для профилактики гепатита А, заявленная активность должна быть не менее 100 МЕ/мл. Рассчитанная активность должна быть не

ниже заявленной. Доверительный интервал (P=0,95) должен быть не менее 80 % и не более 125 % от рассчитанной активности.

Содержание антител определяют путём сравнения со стандартным образцом, калиброванным в международных единицах. За международную единицу принимают активность определённого количества международного стандартного образца иммуноглобулина против гепатита А, устанавливаемую Всемирной организацией здравоохранения.

Может быть использован СО ФЕАЭС *иммуноглобулина человека для профилактики гепатита А*, калиброванный в международных единицах.

Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутримышечного введения.

Стерильность (*2.1.6.1*). Лекарственные препараты должны выдерживать требования испытания на стерильность.

Пирогенность (*2.1.6.2*) или **Бактериальные эндотоксины** *(2.1.6.8.)*. При отсутствии другого обоснования и разрешения уполномоченного органа проводят испытание лекарственного препарата на пирогенность или бактериальные эндотоксины**.** Лекарственный препарат должен выдерживать испытание на пирогенность или при обосновании и разрешении должен соответствовать методу *in vitro*, например, на бактериальные эндотоксины. Тест-дозу в испытании на пирогенность указывают в частной фармакопейной статье и (или) нормативном документе по качеству лекарственного препарата. Испытание проводят для лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для парентерального применения.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Активность (при необходимости). Активность устанавливают в испытаниях с использованием стандартного образца, калиброванного в международных единицах (если применимо) и количественно оценивают по сравнению с активностью стандартного образца. Для вычисления и обработки результатов испытаний используют рекомендации общей фармакопейной статьи *2.3.12.0 Статистическая обработка результатов биологических испытаний лекарственных средств*.

ХРАНЕНИЕ

Для жидких лекарственных препаратов – в защищенном 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.

Для лиофилизированных лекарственных препаратов – в герметичной упаковке в защищенном от света месте, при температуре не выше 25 ºС.

МАРКИРОВКА

На упаковке указывают:

- количество Международных единиц на миллилитр (если применимо);
- содержание белка в первичной упаковке, выраженное в граммах на литр (миллиграммах на миллилитр) для жидких лекарственных препаратов или в граммах на упаковку для лиофилизированных лекарственных препаратов:
- распределение подклассов *IgG*, содержащихся в лекарственном препарате (если применимо);
- содержание альбумина, добавленного в качестве стабилизатора (если применимо);
- максимальное содержание иммуноглобулина А.
- пригодность лекарственного препарата для применения в целях профилактики гепатита А (если применимо);
- содержание антител к вирусу гепатита А в международных единицах на миллилитр (если применимо);

- наименование и содержание антимикробного консерванта (если применимо).

Для лиофилизированных лекарственных препаратов дополнительно указывают:

- название или состав и объем добавляемой жидкости для восстановления.