ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

**Иммуноглобулин ФС**

**человека нормальный [IgG+IgM+IgA],**

**субстанция Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на иммуноглобулин человека нормального [IgG+IgM+IgA], субстанцию, предназначенную для производства готовых лекарственных средств. Субстанция содержит иммуноглобулины классов IgG, IgM, IgA.

В состав субстанции могут входить неспецифические примеси.

ПРОИЗВОДСТВО

Для производства субстанции иммуноглобулина человека нормального [IgG+IgM+IgA] используется плазма крови, полученная не менее чем от 1000 здоровых доноров, соответствующая требованиям ФС «Плазма человека для фракционирования» методами с доказанной эффективностью выделения иммуноглобулиновой фракции и обеспечения вирусной и специфической безопасности.

Производство субстанции иммуноглобулина человека нормального [IgG+IgM+IgA] должно осуществляться с соблюдением надлежащих требований в соответствии с ОФС «Иммуноглобулины человека».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Пастообразная масса белого или голубого цвета. Допускается желтоватый или зеленоватый оттенок. Определение проводят визуально.

Восстановленная суспензия. Прозрачная жидкость.

Примечание

К содержимому бутылки вместимостью 500 мл приливают 300 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида и перемешивают при встряхивании до полного растворения.

**Подлинность.** Подтверждается наличием белков только сыворотки крови человека. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Иммуноэлектрофорез в агаровом геле» или методом иммунодиффузии в геле в соответствии с ОФС «Иммунодиффузия в геле».

**Белок.** От50 до 70 мг/мл. Определение проводят колориметрическим методом c биуретовым реактивом в соответствии с ОФС «Количественное определение белка колориметрическим методом с биуретовым реактивом в препаратах крови человека и животных». Метод А.

**Электрофоретическая однородность.** Фракция иммуноглобулинов [IgG+IgM+IgA] должна составлять не менее 97 % от общего белка, альбумина не более 3 %. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы» с использованием соответствующего стандартного образца.

**Количественное определение иммуноглобулинов.** Содержание иммуноглобулинов должно составлять: Ig G от 50 до 70 %, Ig M от 15 до 25 %, Ig A от 15 до 25 %.

Определение проводят в соответствии с ОФС «Количественное определение содержания иммуноглобулинов классов G, М и А в препаратах иммуноглобулина человека».

**Стерильность.** Должна быть стерильным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Аномальная токсичность.** Должнабыть нетоксична. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Специфическая активность** (содержание антител)**.** Титры антител против сальмонелл и шигелл должны быть не менее 1:320.

Титры антител против сальмонелл и шигелл Флекснера определяют в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Определение проводят с помощью коммерческого эритроцитарного сальмонелезного О - антигенного жидкого комплесного диагностикума и эритроцитарногошигелезного Флекснера 1 – 5, антигенного жидкого в соответствии с инструкциями по применению. Методика и подготовка и разведение испытуемых образцов должны быть указаны в нормативной документации.

Титром антител испытуемых проб считается последнее разведение, в котором наблюдается положительная реакция агглютинации эритроцитов.

**Неспецифические примеси**. Не более 1 % остаточного полиэтиленгликоля. Определение проводят подходящим валидированным методом, например спектрофотометрическим.

Испытуемый образец предварительно разводят в 4 раза 0,9 % раствором натрия хлорида.

К 1 мл испытуемого образца добавляют при перемешивании 4 мл воды, 0,5 мл 10 % раствора бария хлорида, 1 мл суспензии бария гидроксида и 1 мл 5 % раствора цинка сульфата. Полученную смесь перемешивают 2-3 мин, выдерживают 18 - 20 мин в кипящей водяной бане и фильтруют через двойной обеззоленный фильтр (если фильтрат не прозрачен, фильтрование повторяют). Параллельно аналогично готовят контрольный фильтрат, в котором вместо 1 мл испытуемого образца используют 1 мл воды очищенной. Далее к 2 мл фильтрата добавляют 2 мл раствора «А». Одновременно к 2 мл референс – раствора ПЭГ добавляют равное количество раствора «А». Смесь тщательно перемешивают, выдерживают 5-6 мин при температуре 18-20 ºС и измеряют оптическую плотность испытуемоего образца и референс-раствора при длине волны 365 нм в видимой области против контрольной пробы, состоящей из 2 мл контрольного фильтрата и 2 мл раствора «А» для испытуемого образца, а для референс-раствора ПЭГ – из 2 мл воды и 2 мл раствора «А», в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Примечание

Рекомендуется использовать образцы фильтратов, которые позволяют выявить ПЭГ при экстинции менее 0,600. Если экстинция превышает указанную величину, фильтрат следует развести дополнительно.

Результаты анализа

 Концентрацию ПЭГ (Соп) в исследуемом образце субстанции в г/л рассчитывают по формуле:

Соп = $\frac{Еоп ∙7,5 ∙0,0030 ∙Р}{Е р}·10$, где

Еоп – экстинция испытуемого раствора;

7,5 – степень разведения 1,0 мл испытуемого образца;

0,0030 – концентрация ПЭГ в референс-растворе, %;

Р – степень разведения фильтрата;

Ер – экстинкция референс-раствора ПЭГ

10 – коэффициент перевода процентной концентрации ПЭГ в г/л

Примечания

Приготовление референс-раствора ПЭГ. Для приготовления референс-раствора используют ПЭГ с молекулярной массой 4000-6000. Навеску ПЭГ 0,03 г вносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды и после полного растворения ПЭГ доводят объем раствора до метки водой, и перемешивают. Раствор хранят при температуре 15- 25 ºС не более месяца.

Приготовление раствора «А». Из 80 % раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) готовят 30 % раствор ТХУ. 5 г безводного бария хлорида растворяют в 30 % растворе ТХУ в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки и перемешивают. Раствор хранят при температуре для испытуемого образца в течение 2 мес в емкости из темного стекла.

Приготовление суспензии бария гидроксида. 4,73 г бария гидроксида (Ba(OH)2 ˑ 8 H2O) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют в 50 мл воды, перемешивают, доводят водой до метки и вновь перемешивают. Перед употреблением реактив необходимо взбалтывать. Раствор хранят при температуре 15- 25 ºС в течение 2 мес в емкости из темного стекла.

**Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg).** Препарат не должен содержать поверхностного антигена вируса гепатита В. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения Российской Федерации и имеющих чувствительность не ниже 0,1 МЕ/мл, в соответствии с инструкциями по применению.

**Антитела к вирусу гепатита С.** Антитела к вирусу гепатита С должны отсутствовать. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения Российской Федерации и имеющих 100 % чувствительность и специфичность, в соответствии с инструкциями по применению.

**Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1.** Не должна содержать антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения Российской Федерации и имеющих 100 % чувствительность и специфичность, в соответствии с инструкциями по применению.

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Лекарственные препараты из плазмы крови человека». На вторичную (потребительскую) упаковку лекарственных средств, должна наноситься надпись: «Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, к вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В отсутствуют».

**Транспортирование и хранение.** При температуре не выше минус

 5° С.