**Стрептокиназа, ФС**

**субстанция Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на субстанцию стрептокиназы.

Стрептокиназа представляет собой фермент получаемый из фильтратов культуры некоторых штаммов$ $гемолитических *Streptococcus* группы С.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство субстанции, полученной с использованием метода рекомбинантной ДНК, должно быть основано на системе серий посевного материала (системе банков клеток), в которой используются Главный банк клеток (ГБК) и Рабочий банк клеток (РБК).

Используемые в процессе производства клетки и материалы биологического происхождения должны быть охарактеризованы и соответствовать требованиям микробиологической и вирусной безопасности.

Все этапы процесса производства должны быть валидированы, производство субстанции должно проводиться в условиях соблюдения правил надлежащей производственной практики и в соответствии с требованиями ОФС «Лекарственные средства, получаемые методом рекомбинантной ДНК», ОФС «Биологические лекарственные препараты», ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Порошок белого цвета, гигроскопичен.

**Подлинность.** 0,5 мл цитратонй плазмы человека в пробирке из полистирола помещают на водяную баню при температуре 37 °С, прибавляют 0,1 мл разведения испытуемой субстанции содержащую 10 000 МЕ активности стрептокиназы в миллилитре в фосфатном буферном растворе рН 7,2 и 0,1 мл раствора тромбина человека с активностью 20 МЕ/мл в фосфатном буферном растворе рН 7,2. Смешивают, образуется тромб, который должен раствориться в течение 30 мин.

Процедуру повторяют, используя цитратную бычью плазму. Тромб не должен растворяться в течение 60 мин

**Прозрачность.** Должен быть прозрачным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Должен быть бесцветным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**рН.** От 6,8 до 7,5. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Родственные примеси.**

*Стрептодорназа*. Активность стрептодорназы в препарате, должна быть не более 10 ME на 100000 ME стрептокиназы.

*Стрептолизин*. Оптическая плотность испытуемого раствора не должна превышать оптическую плотность стандартного раствора более чем на 50 %.

**Бактериальные эндотоксины.** Менее 0,02 МЕ на 100 МЕ активности стрептокиназы. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Стерильность.** Должна быть стерильной. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность» методом прямого посева или мембранной фильтрации.

**Биологическая активность.** От 90% до 111% от заявленной активности стрептокиназы.

Испытание проводят методом определения фибринолитической активности стрептокиназы.

Раствор натрия фосфата двузамешенного (раствор А). В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 71,5 г натрия фосфата двузамещенного, растворяют в воде и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

Раствор лимонной кислоты (раствор Б). В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 21 г кислоты лимонной, растворяют в воде и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

3% раствор бычьего сывороточного альбумина. 3 г бычьего сывороточного альбумина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в фосфатном буфере и доводят объем раствора до метки тем же растворителем. После приготовления раствор выдерживают в течение 30 минут при температуре 20°С. Раствор хранят при комнатной температуре не более 7 часов.

Раствор тромбина человеческого 20 МЕ/мл. Во флакон, содержащий 100 NIH тромбина человеческого добавляют 5 мл фосфатного буфера, pH 7,2 и перемешивают. Используют свежепри¬готовленный раствор. В период проведения анализа раствор хранят на льду.

Раствор эуглобулина человека 10 мг/мл. Для приготовления раствора используют лиофилизат эуглобулиновой фракции человека, во флаконах с указанной на этикетке исходной концентрацией общего белка. Во флакон добавляют такой объём фосфатного буфера (pH 7,2), чтобы получить раствор, с концентрацией общего белка 10 мг/мл.

Используют свежеприготовленный раствор. В период проведения анализа раствор хранят на льду.

Основной испытуемый раствор (1000 МЕ/мл). 1 мл восстановленного препарата разводят в таком количестве 3% раствора бычьего сывороточного альбумина, чтобы получить раствор препарата, содержащий в 1 мл 1000 ME стрептокиназы.

Основной стандартный раствор (1000 МЕ/мл). Содержимое флакона рабочего стандартного образца стрептокиназы растворяют в 5 мл воды для инъекций в течение 1-2 минут.

1 мл восстановленного рабочего стандартного образца стрептокиназы разводят в таком количестве 3% раствора сывороточного бычьего альбумина, чтобы получить раствор, содержащий в 1 мл 1000 МЕ стрептокиназы.

Испытание проводят в 4 повторностях, для этого берут 24 пробирки диаметром 1 см и высотой 10 см расставляют по 3 пробирки в 8 рядов.

В каждую пробирку вносят по 0,2 мл 3% раствора сывороточного бычьего альбумина и по 0,1 мл раствор тромбина человеческого 20 МЕ/мл. Пробирки помещают в водяную баню при 37°С и оставляют на 2 минуты для уравновешивания температуры.

На дно первой пробирки вводят 0,5 мл раствора эуглобулина человека и перемешивают содержимое. С интервалом в 5 сек добавляют последовательно в оставшиеся пробирки 0,5 мл раствора эуглобулина человека.

Используя секундомер, определяют для каждой пробирки время в секундах между добавлением раствора эуглобулина человека и лизисом сгустка.

Для каждой повторности стандартного раствора стрептокиназы строят в логарифмических координатах калибровочный график зависимости времени лизиса сгустка от степени разведения. Система считается пригодной, если для калибровочной кривой выполняется требование линейности, коэффициент корреляции не ниже 0,98, а время лизиса сгустка для максимального разведения должно быть не более 20 минут.

Активность стрептокиназы испытуемого препарата определяют путем сравнения с активностью стрептокиназы рабочего стандартного образца, используя логарифмы времени лизиса сгустка и статистические методы.

Поверхностный Антиген вируса гепатита В (HBsAg)

# Должен отсутствовать. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест - систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения Российской Федерации, либо другим валидированным методом. Чувствительность тест - системы должна быть не более 0,2 МЕ/мл. Определение проводят в соответствии ОФС «Метод иммуноферментного анализа»

Испытуемый раствор. Готовят раствор препарата с концентрацией 33000 МЕ/мл, используя для этого содержимое одного флакона с препаратом (дозировки 50000 ME, 100000 ME, 500000 ME) или четырех флаконов (дозировка 10000 ME).

Антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Антитела к вирусам иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2) должны отсутствовать.Определение проводят в соответствии ОФС «Метод иммуноферментного анализа» либо другим валидированным методом.Приготовление испытуемого раствора описано в разделе «Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg)».

Антитела к вирусу гепатита С. Антитела к вирусу гепатита С должны отсутствовать. Исследования 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. Определение проводят в соответствии ОФС «Метод иммуноферментного анализа» либо другим валидированным методом.Приготовление испытуемого раствора описано в разделе «Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg)».

**Аномальная токсичность.** Должна быть нетоксична. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Хранение.** При температуре 25 °С в защищенном от света месте. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Не замораживать.