

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

ФС.4.0006

ПЛАЗМА ЧЕЛОВЕКА ВИРУСИНАКТИВИРОВАННАЯ

Вводится впервые

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Стерильная, замороженная или лиофилизированная, апирогенная плазма, полученная из крови доноров одной группы крови системы АВ0. Плазму размораживают или восстанавливают перед применением, чтобы получить раствор для инфузии.

Плазма, используемая для получения плазмы человека вирусинактивированной, должна соответствовать требованиям (где применимо) *ФС "Плазма человека для фракционирования"*.

ПРОИЗВОДСТВО (ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ)

Индивидуальные донации плазмы охлаждают до температуры $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ или ниже в течение шести часов после отделения клеток и всегда в течение 24 ч после сбора донации.

Пул плазмы готовят путем объединения индивидуальных донаций плазмы одной группы крови системы АВ0.

ИСПЫТАНИЯ ПУЛА ПЛАЗМЫ

Пул плазмы подвергают испытанию на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2 иммунологическими методами с подходящей чувствительностью и специфичностью; результаты испытаний должны быть отрицательными.

РНК вируса гепатита А (*ОФС "Методы амплификации нуклеиновых кислот"*). Должна отсутствовать.

Испытание пула плазмы проводят с использованием валидированной методики амплификации нуклеиновых кислот. Испытание на наличие РНК вируса гепатита А проводят с использованием положительного контроля с $1,0 \cdot 10^2$ МЕ/мл РНК вируса гепатита А. Выявление ингибиторов проводят с использованием внутреннего контроля, приготовленного путем прибавления подходящего маркера к испытываемому образцу. Результат испытания является достоверным лишь при условиях получения положительного результата для образца положительного контроля и получения результата с внутренним контролем, указывающим на отсутствие ингибиторов.

В качестве положительного контроля может быть использован фармакопейный стандартный образец *РНК вируса гепатита А для испытания методом амплификации нуклеиновых кислот*.

РНК вируса гепатита С (*ОФС "Методы амплификации нуклеиновых кислот"*). Должна отсутствовать.

Испытание пула плазмы проводят с использованием валидированной методики амплификации нуклеиновых кислот. Испытание на наличие РНК вируса гепатита С проводят с использованием положительного контроля с $1,0 \cdot 10^2$ МЕ/мл РНК вируса гепатита С. Выявление ингибиторов проводят с использованием внутреннего контроля, приготовленного путем прибавления подходящего маркера к испытываемому образцу. Результат испытания является достоверным лишь при условиях получения положительного результата для образца положительного контроля и получения результата с внутренним контролем, указывающим на

отсутствие ингибиторов.

В качестве положительного контроля может быть использован фармакопейный стандартный образец *РНК вируса гепатита С для испытания методом амплификации нуклеиновых кислот*.

РНК вируса гепатита Е (ОФС "*Методы амплификации нуклеиновых кислот*"). Должна отсутствовать.

Испытание пула плазмы проводят с использованием валидированной методики амплификации нуклеиновых кислот. Испытание на наличие РНК вируса гепатита Е проводят с использованием положительного контроля с $3,2 \cdot 10^2$ МЕ/мл РНК вируса гепатита Е. Выявление ингибиторов проводят с использованием внутреннего контроля, приготовленного путем прибавления подходящего маркера к испытываемому образцу. Результат испытания является достоверным лишь при условиях получения положительного результата для образца положительного контроля и получения результата с внутренним контролем, указывающим на отсутствие ингибиторов.

В качестве положительного контроля может быть использован фармакопейный стандартный образец *РНК вируса гепатита Е для испытания методом амплификации нуклеиновых кислот*.

ДНК парвовируса В 19 (ОФС "*Методы амплификации нуклеиновых кислот*"). Не более 10,0 МЕ/мкл.

Для ограничения потенциальной нагрузки парвовируса В 19 в пулах плазмы, пул плазмы также испытывают на парвовирус В 19 с использованием валидированной методики амплификации нуклеиновых кислот. Испытание на наличие ДНК парвовируса В 19 проводят с использованием положительного контроля с 10,0 МЕ/мкл ДНК парвовируса В 19. Выявление ингибиторов проводят с использованием внутреннего контроля, приготовленного путем прибавления подходящего маркера к испытываемому образцу. Результат испытания является достоверным лишь при условиях получения положительного результата для образца положительного контроля и получения результата с внутренним контролем, указывающим на отсутствие ингибиторов.

В качестве положительного контроля может быть использован фармакопейный стандартный образец *ДНК парвовируса В 19 для испытания методом амплификации нуклеиновых кислот*.

СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА

Способ производства должен быть разработан таким образом, чтобы минимизировать активацию любого фактора свертывания крови (чтобы минимизировать потенциальную тромбогенность) и включать этап или этапы, которые, при условии подтверждения их эффективности и безопасности, инактивируют известные инфекционные патогены; если для инактивации вирусов в процессе производства используются реактивы, последующая процедура элиминации должна быть валидирована, чтобы показать, что концентрация этих реактивов снижена до приемлемого уровня и что любые остаточные компоненты, присутствующие в лекарственном препарате, не оказывают вредного воздействия на пациентов.

Процесс инактивации. В методе инактивации оболочечных вирусов растворителем-детергентом, используют подходящие вирусинактивирующие агенты, например, обработку комбинацией трибутилфосфата и октоксинола 10; эти реактивы впоследствии удаляют путем масляной экстракции или твердофазной экстракции, чтобы их количество в лекарственном препарате составляло менее 2 мкг/мл для трибутилфосфата и менее 5 мкг/мл для октоксинола 10.

Не должна содержать антимикробных консервантов.

Плазму человека вирусинактивированную после стерилизующей фильтрации в асептических

условиях помещают в емкости и немедленно замораживают; затем она может быть подвергнута сублимационному высушиванию.

Упаковка должна соответствовать установленным требованиям и быть герметичной для исключения контаминации микроорганизмами.

СВОЙСТВА

Описание

В замороженном состоянии: прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость, не содержащая после размораживания твердых и желеобразных частиц; в лиофилизированном состоянии: почти белый или слегка желтоватый порошок или аморфная масса.

Размораживают или восстанавливают плазму в соответствии с указаниями производителей непосредственно перед проведением идентификации, испытаний и количественного определения.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

А. Испытание проводят методом электрофореза (ОФС "Электрофорез") в сравнении с нормальной плазмой крови человека.

Результаты испытания считают достоверными, если на электрофореграмме испытуемого раствора присутствуют те же полосы, что и на электрофореграмме раствора сравнения.

Б. Должен выдерживать требования испытания на анти-А и анти-В гемагглютинины (раздел Испытания).

ИСПЫТАНИЯ

pH (ОФС "Потенциометрическое определение pH"). От 6,5 до 7,6.

Осмоляльность (ОФС "Осмоляльность и Осмолярность"). Не менее 240 мОсм/кг.

Общий белок. Не менее 45 г/л.

Разводят раствором 9 г/л натрия хлорида Р до концентрации около 7,5 мг белка в 1 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 пяти минут. Декантируют надосадочную жидкость и переворачивают пробирку на фильтровальную бумагу для высушивания. Определяют азот в осадке (ОФС "Определение азота после минерализации серной кислотой") и рассчитывают содержание белка, умножая полученное значение на 6,25.

Активированные факторы свертывания крови (ОФС "Активированные факторы свертывания крови человека"). Должен выдерживать требования испытания на активированные факторы свертывания крови.

Испытание проводят с 0,1 мл испытуемого образца вместо десятикратных и стократных разведений. Время коагуляции испытуемого образца не менее 150 с.

Анти-А и анти-В гемагглютинины (ОФС "Определение анти-А и анти-В гемагглютининов", метод 1, методика 1). Наличие гемагглютининов анти-А или анти-В соответствует указанной группе крови.

Антитела к вирусу гепатита А (ОФС "Метод иммуноферментного анализа"). Не менее 0,3

МЕ/мл.

В качестве стандартного образца может быть использован фармакопейный стандартный образец *иммуноглобулина человека против гепатита А*.

Нерегулярные эритроцитарные антитела. Испытуемый образец не должен содержать нерегулярные эритроцитарные антитела при испытании без разбавления методом непрямой гемагглютинации.

Цитрат. Жидкостная хроматография (ОФС "Жидкостная хроматография").

Испытуемый раствор. Разводят испытуемый образец равным объемом раствора 9 г/л натрия хлорида Р. Фильтруют с помощью мембранного фильтра (номинальный размер пор 0,45 мкм).

Раствор сравнения. 0,300 г натрия цитрата Р растворяют в воде Р и доводят объем раствора тем же растворителем до 100,0 мл.

Условия хроматографирования:

- колонка: длиной 0,3 м и внутренним диаметром 7,8 мм; заполненная катионообменной смолой Р с размером частиц 9 мкм;

- подвижная фаза: раствор 0,51 г/л серной кислоты концентрированной Р;

- скорость потока: 0,5 мл/мин;

- детектор: спектрофотометрический, длина волны 215 нм;

- уравнивание колонки: 15 мин;

- объем вводимой пробы: 10 мкл.

Время удерживания: цитрат около 10 мин.

Предел содержания:

- цитрат: не более 25 ммоль/л.

Кальций (ОФС "Атомно-абсорбционная спектрометрия", [метод 1](#)).

Не более 5,0 ммоль/л.

Условия испытания:

- источник: кальциевая лампа с полым катодом с предпочтительным использованием полосы трансмиссии 0,5 нм;

- длина волны: 622 нм;

- атомизация: воздушно-ацетиленовое или ацетилен-пропановое пламя.

Калий (ОФС "Атомно-эмиссионная спектрометрия", [метод 1](#)). Не более 5,0 ммоль/л.

Определение проводят при длине волны 766,5 нм.

Натрий (ОФС "Атомно-эмиссионная спектрометрия", [метод 1](#)). Не более 200 ммоль/л.

Определение проводят при длине волны 589 нм.

Вода (ОФС "Полумикроопределение воды" или ОФС "Спектрометрия в ближней инфракрасной области") или **Потеря в массе при высушивании** (ОФС "Потеря в массе при высушивании"). Содержание воды должно соответствовать установленным требованиям. Испытание проводят для лиофильно высушенной плазмы.

Стерильность (ОФС "Стерильность"). Должен быть стерильным.

Пирогенность (ОФС "Пирогенность") или **Бактериальные эндотоксины** (ОФС "Бактериальные эндотоксины"). Должен выдерживать испытание на пирогенность или, предпочтительно при обосновании, соответствовать методу *in vitro*, например, на бактериальные эндотоксины.

Для испытания на пирогенность на 1 кг массы кролика вводят объем 3 мл.

При испытании на бактериальные эндотоксины содержание бактериальных эндотоксинов должно составлять менее 0,1 МЕ/мл.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Количественное определение фактора свертывания крови человека VIII (ОФС "Количественное определение фактора свертывания крови человека VIII").

В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по международному стандартному образцу фактора свертывания крови VIII в плазме.

Рассчитанная активность должна быть не менее 0,5 МЕ/мл. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

Количественное определение фактора свертывания крови человека V. В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по международному стандартному образцу фактора свертывания крови V, плазма. Испытание проводят, как указано ниже.

Готовят не менее трех последовательных двукратных разведений испытуемого образца, желательно в двух повторностях, от 1:10 до 1:40, с использованием *имидазольного буферного раствора pH 7,3 P*. Проводят испытание каждого разведения: смешивают 1 объем *плазменного субстрата, с пониженным содержанием фактора V P*, 1 объем разведения испытуемого образца, 1 объем *тромбопластина P* и 1 объем раствора 3,5 г/л *кальция хлорида P*; измеряют время коагуляции, прошедшее между прибавлением раствора 3,5 г/л *кальция хлорида P* и появления первых признаков образования фибрина, которое наблюдают визуально или с помощью подходящего прибора.

Аналогично определяют время коагуляции четырех двукратных (от 1:10 до 1:80) разведений стандартной плазмы крови человека в *имидазольном буферном растворе pH 7,3 P*.

Проверяют достоверность результатов испытания и рассчитывают активность испытуемого образца общепринятыми статистическими методами (ОФС "Статистическая обработка результатов биологических испытаний лекарственных средств").

Рассчитанная активность должна быть не менее 0,5 МЕ/мл. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

Количественное определение фактора свертывания крови человека XI (ОФС "Количественное определение фактора свертывания крови человека XI").

В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по международному стандартному образцу фактора свертывания крови XI в плазме.

Рассчитанная активность должна быть не менее 0,5 МЕ/мл. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

В качестве стандартного образца в вышеуказанных испытаниях может быть использован фармакопейный стандартный образец *факторов свертывания крови V, VIII, XI и XIII плазмы*.

Количественное определение протеина С человека (ОФС "Количественное определение протеина С человека").

В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по международному стандартному образцу протеина С в плазме.

Рассчитанная активность должна быть не менее 0,7 МЕ/мл. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

Количественное определение протеина S человека (ОФС "Количественное определение протеина S человека").

В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по международному стандартному образцу протеина S плазмы.

Рассчитанная активность должна соответствовать установленным требованиям. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

Количественное определение ингибитора плазмينا человека (α_2 -антиплазмина) (ОФС "Количественное определение ингибитора плазмينا человека").

В испытании используют стандартную плазму крови человека, калиброванную по нормальной плазме человека.

Одна единица ингибитора плазмина человека равна активности 1 мл нормальной плазмы человека. Нормальную плазму человека готовят путем объединения единиц плазмы не менее чем от 30 доноров и хранят при температуре $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ или ниже.

Рассчитанная активность должна быть не менее 0,2 ЕД/мл. Доверительный интервал ($P = 0,95$) рассчитанной активности должен быть не менее 80% и не более 120% от заявленной активности.

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Применяют прибор, подходящий для измерения времени коагуляции, или проводят испытание с помощью инкубационных пробирок, помещенных в водяную баню при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Помещают в каждую пробирку 0,1 мл испытуемого образца и 0,1 мл подходящего АЧТВ реактива (содержащего фосфолипид и контактный активатор), предварительно нагретых до температуры $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, и инкубируют смесь в течение рекомендуемого времени при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. В каждую пробирку прибавляют 0,1 мл раствора 3,7 г/л кальция хлорида *R*, предварительно нагретого до температуры $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ и измеряют время, прошедшее между прибавлением раствора 3,7 г/л кальция хлорида *R* и появления первых признаков образования фибрина, которое наблюдают визуально

или с помощью подходящего прибора. Объемы указанных выше реактивов могут быть скорректированы для используемого АЧТВ реактива и прибора. Время коагуляции соответствует установленным требованиям.
