

Сравнительный анализ требований к качеству гетерологичных сывороточных препаратов в фармакопеях ведущих стран — производителей лекарственных средств

О. В. Перельгина, Е. И. Комаровская

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила 21.12.2016 г. Принята к публикации 07.02.2017 г.

Проведен сравнительный анализ требований к гетерологичным сывороточным препаратам ведущих фармакопей мира: США, Великобритании, Европейской, Японской и Российской. Установлено, что номенклатура противобактериальных и противовирусных гетерологичных сывороточных препаратов, выпускаемых в США, Европейском регионе и Японии, отличается от российской. В зарубежных странах для профилактики и лечения некоторых инфекционных заболеваний в основном используют иммуноглобулины человека, для профилактики других инфекций, например, сибирской язвы, применяется только вакцинопрофилактика. Тем не менее, гетерологичные антитоксические сывороточные препараты до сих пор применяются в клинической практике во всем мире. Номенклатура данных лекарственных средств аналогична во всех странах. Некоторые из данных лекарственных средств внесены ВОЗ в Перечень основных лекарственных средств. На основании проведенного анализа установлено, что отечественные антитоксические сывороточные препараты по безопасности и эффективности не уступают зарубежным аналогам. Более полная характеристика качества отечественных препаратов будет полезна для гармонизации требований, предъявляемых к таким препаратам отечественной и зарубежными фармакопеями, а также даст возможность вывести препараты на зарубежный рынок.

Ключевые слова: гипериммунные сыворотки; гетерологичные иммуноглобулины; антитоксические сыворотки; антивеном; фармакопея; гармонизация; специфическая активность.

Библиографическое описание: Перельгина ОВ, Комаровская ЕИ. Сравнительный анализ требований к качеству гетерологичных сывороточных препаратов в фармакопеях ведущих стран – производителей лекарственных средств. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(1): 32–40.

В настоящее время во всем мире к любому лекарственному препарату (ЛП) предъявляются требования эффективности, безопасности и гарантии качества на протяжении всего срока годности препарата.

Показатели качества иммунобиологических ЛП (ИЛП) и методики определения каждого показателя содержатся в нормативной документации, являющейся государственным стандартом качества ЛП, и представлены в виде фармакопейной статьи (ФС). Фармакопейные требования установлены таким образом, что их соблюдение обеспечивает качество ЛП, его эффективность и безопасность. Требования фармакопеи обязательны для всех организаций стандартизирующих, изготавливающих и контролирующих ЛП на соответствующей территории.

С началом и развитием процесса глобализации встал вопрос о гармонизации требований, предъявляемых к лекарственным средствам (ЛС), поскольку субстанции, произведенные в одной стране, могут использоваться в других странах для изготовления ЛС, которое, в свою очередь, экспортируется в другие регионы. Поэтому очевидно, что для обеспечения качества, эффективности и безопасности ЛС необходимо следовать единым стандартам.

С целью гармонизации созданы международные объединения, одним из которых является Фармакопейная дискуссионная группа (PDG), осуществляющая гармонизацию требований European Pharmacopoeia (EP), United States Pharmacopoeia (USP), British Pharmacopoeia (BP) и Japanese Pharmacopoeia (JP) [1, 2]. Следовательно, существует необходимость изучения современного зарубежного опыта регистрации ИЛП с целью гармонизации научных

подходов к подтверждению качества, безопасности и эффективности российских препаратов с аналогичными зарубежными. В нашей стране разработана Концепция гармонизации фармакопей государств-членов Евразийского экономического союза [3]. Ведущая роль в процессе гармонизации отведена Федеральному государственному бюджетному учреждению «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). В настоящее время Центр фармакопей и международного сотрудничества ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России активно взаимодействует с ведущими зарубежными фармакопеями (Международной, Европейской, Британской, Японской фармакопеями, Фармакопеей США).

С 1 января 2016 г. в Российской Федерации введена в действие Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания (ГФ РФ XIII) [4], в которой охвачен весь спектр ЛП и современных методов оценки их качественных характеристик. В России производится значительное количество гетерологичных сывороточных препаратов, гармонизация требований к их качеству является необходимой [5]. Проблема является актуальной также и потому, что возникает вопрос о необходимости выпускать антитоксические сыворотки животного происхождения, в то время как в мире необходимость производства данных препаратов не только не ставится под сомнение, но и совершенствуются технологии производства и проводятся клинические исследования препаратов, созданных по новой технологии [6, 7]. Гетерологичные сыворотки и имму-

ноглобулины до сих пор находят клиническое применение, особенно в качестве метода экстренной терапии и также применяются в комплексе с другими методами лечения некоторых инфекционных болезней и укусов ядовитых животных. Особое внимание в мире уделяется препаратам, включенным ВОЗ в Список медикаментов первой необходимости (WHO Essential Medicines List). В Список включены такие гетерологичные сыворотки, как дифтерийный антитоксин и антивеномы (препараты против ядов змей, пауков, скорпионов) [8]. По мнению ВОЗ, необходимо создавать поливалентные препараты (антивеномы), учитывая региональные особенности каждой страны, а также изучая перекрестный иммунитет не только на животных, но также включая в исследования людей, укушенных змеей.

ВОЗ отмечает, что медикаменты, включенные в Перечень основных лекарственных средств, должны быть доступны работающей системе здравоохранения во все время в достаточном количестве, в подходящих лекарственных формах, в надлежащем качестве и с ценой, приемлемой для физических лиц и общественных организаций [9].

Несмотря на то, что необходимость производства данных препаратов не ставится под сомнение, в мире отмечается дефицит антитоксических сывороток в связи с прекращением производства в нескольких странах, низкой экономической рентабельностью и высокими требованиями регуляторных органов по безопасному производству медицинских препаратов из крови [10].

В настоящее время в России зарегистрировано 15 наименований гетерологичных препаратов крови (специфичных антитоксических сывороток, антибактериальных и противовирусных иммуноглобулинов и антигемолитических иммуноглобулинов) [11].

Восемь из них представлены специфичными антитоксическими сыворотками лошадиными жидкими российского производства: дифтерийная, столбнячная, гангренозная поливалентная, ботулиническая типов А, В и Е, сыворотка против яда гадюки (антивеном) и сыворотка разведенная 1:100. Два наименования являются антибактериальными иммуноглобулинами: противолептоспирозный и противосибиреязвенный [12, 13], и противовирусные: антирабический (российского и украинского производства), против клещевого энцефалита.

Разработаны видоспецифичные гетерологичные (из сыворотки крови лошадей) иммуноглобулины против вирусных инфекций: иммуноглобулин против Боливийской геморрагической лихорадки [14], иммуноглобулин против лихорадки Марбург [15], иммуноглобулин против лихорадки Эбола [16, 17], иммуноглобулин против лихорадки Ласса [17–19], иммуноглобулин противооспенный, иммуноглобулин против венесуэльского энцефаломиелита лошадей [20].

Наряду с отечественными сывороточными препаратами против указанных инфекций, в России зарегистрированы препараты, содержащие антитела к тимоцитам человека. Часть данных препаратов представляет собой иммуноглобулин из крови кроликов: Тимоглобулин («Genzim Europe», Нидерланды), АТГ-Фрезениус С («Fresenius Biotech», Германия), Антилимфолин (также может производиться из крови козы, Российский НИИ геронтологии, Россия). Антигемолитический иммуноглобулин Атгам («Pharmacia & Upjohn», США) производят из крови лошади [11].

В зарубежных странах гетерологичные сывороточные препараты, представленные, в основном, антитоксинами, аналогичны некоторым препаратам российского произ-

водства (табл. 1). В качестве животных-продуцентов чаще всего используются лошади. Наряду с гетерологичными сывороточными препаратами производятся препараты из крови человека сходной специфичности.

В Европейской и Британской фармакопеях [2, 21] представлены требования к антитоксическим гетерологичным сывороткам, номенклатура которых аналогична российской. Противоботулиническая и противогангренозная сыворотки, выпускаемые европейскими производителями, могут быть как моновалентными, так и поливалентными. В России противоботулинические сыворотки выпускают только в виде моновалентных препаратов. Противогангренозная сыворотка, выпускаемая и в странах еврозоны, и в России, содержит антитела к трем видам возбудителя инфекции (*Clostridium perfringens*, *C. septicum*, *C. oedematiens (novyi)*).

Номенклатура японских антитоксических гетерологичных сывороток аналогична российской и европейской [22]. Японская противоботулиническая сыворотка выпускается как моно-, би-, трех- и поливалентный препарат, и наряду с антителами к трем серотипам *C. botulinum* А, В, Е, может также содержать антитоксин ботулинический типа F, в отличие от европейских и российских антитоксических гетерологичных сывороток. Противогангренозная сыворотка выпускается только поливалентной, содержит антитоксины септикум, перфрингенс, эдематигенс, но может содержать антитоксин гистолитикум. В российских и европейских противогангренозных препаратах антитоксин гистолитикум не содержится.

В отличие от вышеприведенных фармакопей, в США номенклатура сывороточных препаратов представлена двумя наименованиями сывороток противоботулинических (бивалентной и семивалентной) и четырьмя видами антивеномов (поливалентной сывороткой против яда крокодила, сыворотками против ядов восточной коралловой змеи, скорпиона и паука черная вдова) [23]. Противоботулиническая бивалентная сыворотка (содержит серотипы А и В) применяется у младенцев, в состав семивалентной сыворотки входят все известные серотипы *Clostridium botulinum*: А, В, С, D, Е, F, G (к серотипам С и D человек не чувствителен) [24–29]. Оба вида сывороток выпускаются в Канаде.

Антивеномы, зарегистрированные и применяемые в США, выпускаются Bioclon Institute, Мексика. Bioclon Institute производит антивеномы с 1990 г. и в настоящее время является ведущим мировым производителем этих препаратов [30], экспортируя свою продукцию в Австралию, страны Южной Америки, Ближнего Востока, Африки и некоторые регионы Европы. Bioclon Institute разработал антивеномы «третьего поколения» [31–33], которые отличаются от других антивеномов низкой реактогенностью, что подтвердили клинические исследования [34]. Достигнуто это путем изменения процесса очистки F(ab')₂-фрагмента. В связи с этим Bioclon Institute ввел новый термин, вместо «серотерапия» (serotherapy) — «фаботерапия» («fabotherapy») и, соответственно, свои препараты называют не «антивеномы», а «fabotherapeutic».

До 1996 г. на территории США компанией «Connaught Laboratories» производилась сыворотка противодифтерийная. В 1997 году компания вошла в состав «Pasteur Mérieux», ее производство было переведено во Францию и другие европейские страны. В 2002 году «Pasteur Mérieux» закрыл производство противодифтерийной сыворотки. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) в США не нашел лицензированного производителя на тер-

ритории США, поэтому, при необходимости, противодифтерийная сыворотка изыскивается из альтернативных международных источников. Дифтерийный анитоксин производится в Сан Пауло (Бразилия) и доступен в США в рамках IND program (программа по исследованию новых медикаментов).

К обязательным требованиям, предъявляемым к иммунным гетерологичным сывороткам, относятся: безопасность для человека, специфическая (иммунобиологическая) активность, стерильность [35]. Сывороточные препараты не должны обладать неспецифической токсичностью (связанной с наличием в них консервантов, различных стабилизаторов, сорбентов, «наполнителей» и других компонентов), должны быть апиrogenны. Отсутствие или допустимое содержание неспецифических токсических веществ в препаратах определяют химическими методами или биологической пробой на животных, особо чувствительных к определенным токсическим компонентам [36, 37].

Для получения анитоксических сывороток плазму или сыворотку иммунизированных животных подвергают очистке и концентрированию с использованием различных методов с целью получения фракции иммуноглобулинов и удаления балластных белков. Готовый продукт мо-

жет содержать стабилизаторы, консерванты, наполнители, а также вещества, использовавшиеся в процессе производства в незначительных концентрациях. В разных странах перечень этих веществ и их максимально допустимое количество варьируется. В зарубежных препаратах в качестве наполнителей и стабилизаторов применяют альбумин, глицин, сахарозу, мальтозу, полисорбат 80. В качестве консервантов используют фенол, крезол, тиомерсал. Содержание этих веществ в конечном продукте должно соответствовать спецификации на данную сыворотку. Зарегистрированные в США антивеномы не должны содержать альбумин. По требованиям ЕФ концентрация стабилизаторов в конечном продукте должна быть в пределах 80–120 % от указанной на этикетке, консервантов — не менее минимально эффективной и не более 115 % от указанной на этикетке, содержание фенола не должно превышать 2,5 г/л. Российские требования допускают в конечном продукте наличие сульфатов (не более 0,025 %), хлоридов (от 0,85 до 0,95 %) и следовые количества хлороформа (не более 0,1 %).

В таблице 2 представлены требования к качеству гетерологичных анитоксических сывороточных препаратов Российской (ГФ РФ XIII) и ведущих мировых фармакопей.

Таблица 1. Сравнение номенклатуры российских гетерологичных анитоксических препаратов крови с зарубежными

Российской (ГФ РФ XIII)	Наименование сыворотки в фармакопеех			
	Европейской	Британской	Японии	США
Противостолбнячная сыворотка (лошадиная жидкая) Tetanus antitoxin, equine	Лошадиная жидкая или лиофилизированная		Лошадиная лиофилизат	Не выпускается (вакцинопрофилактика); иммуноглобулин человеческий
Противодифтерийная сыворотка (лошадиная жидкая) Diphtheria antitoxin, equine	Лошадиная жидкая или лиофилизированная		Лошадиная лиофилизат	Не выпускается (вакцинопрофилактика)
Противогангренозная сыворотка поливалентная (противосептикум, противоперфрингенс, противоэдематический) (лошадиная жидкая) Gas-Gangrene Antitoxin, equine	Лошадиная жидкая или лиофилизированная		Лошадиная жидкая или лиофилизированная (также может содержать противогистолитикум)	Не выпускается
Противоботулиническая сыворотка типа А (лошадиная жидкая)	Лошадиная жидкая или лиофилизированная		Лошадиная; также выпускается сыворотка типа F (может быть моно-, би-, три-, тетра-валентная)	Лошадиная жидкая – сыворотка бивалентная типов А, В – сыворотка семивалентная типов А, В, С, D, E, F, G
Противоботулиническая сыворотка типа В (лошадиная жидкая)	Лошадиная жидкая или лиофилизированная			
Противоботулиническая сыворотка типа Е (лошадиная жидкая) Botulinum Antitoxin, equine	Лошадиная жидкая или лиофилизированная (может быть моно-, би-, три-валентная)			
Сыворотка против яда змей (лошадиная жидкая) Viper Venom Antiserum, equine	Антивеном Лошадиная жидкая или лиофилизированная (против яда гадюк 3 видов). Может быть моно- и поливалентной		Антивеном Лошадиная лиофилизат против одного вида гадюковой змеи	Антивеном Лошадиная жидкая и лиофилизат. Против яда коралловой змеи; яда кроталида; скорпиона; паука черная вдова
Сыворотка разведенная 1:100 (лошадиная жидкая)	Не выпускается		Не выпускается	Лошадиная жидкая 1:10
Имуноглобулин противосибиреязвенный (лошадиный жидкий)	Не выпускается (вакцинопрофилактика)		Не выпускается	Не выпускается (вакцинопрофилактика)
Имуноглобулин антирабический (лошадиный жидкий)	Только человеческий		Не выпускается	Только человеческий

Таблица 2. Сравнительные требования к показателям качества антитоксических сывороточных препаратов ведущих фармакопей

Показатель	Требование фармакопеи			
	Российской Федерации (ГФ РФ XIII)	Европейской и Британской	Японской	США
Описание	Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная или с желтоватым оттенком жидкость, без осадка	Жидкие — прозрачная или опалесцирующая бесцветная или желтоватая жидкость. Лиофилизат — белый или слегка желтый порошок или твердая, легко рассыпающаяся в порошок масса. После восстановления должна обладать характеристиками жидкого препарата	Лиофилизат. После восстановления бесцветная или желто-коричневая прозрачная или слегка мутно-белая жидкость	Жидкие или лиофилизированные. Должны соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата
Прозрачность	Не выше 0,05 при E = 540 нм	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>
Цветность	Не выше 0,15 при E = 400 нм	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>
Механические включения	Механические включения должны отсутствовать	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>
Подлинность (видоспецифичность, специфичность антител)*	Должна нейтрализовать действие токсина соответствующего типа	Подлинность определяется иммунобиологическими тестами нейтрализации и, при необходимости, по биологической активности	Тест должен сопровождаться адекватным методом для каждого антитоксина	Должна присутствовать полоса гамма-глобулина (определение методом электрофореза)
pH	От 6,8 до 7,2	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	6,8–7,4	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата
Белок	От 8 до 12 %	90–110 % от заявленного или не более 100 г/л	Должен соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	Должен соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата
Стерильность	Препарат должен быть стерилен	Препарат должен быть стерилен	Препарат должен быть стерилен	Препарат должен быть стерилен
Пирогенность	Должна быть апиrogenной. Биологический тест на кроликах (1 мл/кг массы кролика)	Если не указано иначе, препарат должен выдерживать испытание на пирогенность. Если не указано иначе, вводят внутривенно 1 мл/кг массы кролика	Должна быть апиrogenной	Должна быть апиrogenной
Токсичность	Должна быть нетоксичной	<i>Требования отсутствуют</i>	Должна быть нетоксичной	Должна быть нетоксичной
Специфическая активность	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата
Удельная активность	Должна соответствовать заявленным характеристикам для частного препарата	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>	<i>Требования отсутствуют</i>
Чистота (полоса гамма-глобулина, метод электрофореза)	<i>Требования отсутствуют</i>	Должна содержать полоску гамма-глобулина (метод электрофореза в полиакриламидном геле)	Полоса иммуноглобулина не менее 95 %	В соответствии со спецификацией на данный продукт
Осмоляльность	<i>Требования отсутствуют</i>	Минимум 240 мОсмоль/кг	<i>Требования отсутствуют</i>	В соответствии со спецификацией на данный продукт
Молекулярный состав	<i>Требования отсутствуют</i>	В соответствии со спецификацией на данный продукт (метод ВЭЖХ)	<i>Требования отсутствуют</i>	F(ab') ₂ — не менее 85 % F(ab) — не менее 7 % Посторонние иммуноглобулины — менее 5 %
Вода (для лиофилизированных препаратов)	<i>Требования отсутствуют</i>	Не более 3 %	Не более 3 %	В соответствии со спецификацией на данный продукт
Извлекаемый объем	В соответствии со спецификацией на данный продукт	В соответствии со спецификацией на данный продукт	В соответствии со спецификацией на данный продукт	В соответствии со спецификацией на данный продукт
Растворители и реагенты, выпускаемые в комплекте с препаратом	Сыворотка лошадиная очищенная разведенная 1:100	<i>Не выпускаются</i>	<i>Не выпускаются</i>	Сыворотка лошадиная разведенная 1:10

Требования по показателям «Извлекаемый объем», «Подлинность», «рН», «Стерильность», «Апирогенность», «Токсичность», «Специфическая активность» и «Содержа-

ние белка» предъявляются к антитоксическим сывороточным препаратам всеми производителями. Отличия существуют лишь в методике определения. Например,

Таблица 3. Сравнение требований к специфической активности гетерологичных сывороток

Наименование сыворотки	Требование по показателю «Специфическая активность»			
	ГФ РФ XIII	ЕФ/БФ	ЯФ	ФСША
Противостолбнячная	Не менее 3000 МЕ/мл**	Не менее 1000 МЕ/мл для профилактических целей; не менее 3000 для лечебных целей	Нет данных об активности	—
Противодифтерийная	Не менее 1500 МЕ/мл или 10000 МЕ/ампула	Не менее 1000 МЕ/мл, если сыворотка получена из крови лошади; не менее 500 МЕ/мл, если получена от других животных или 10000 МЕ/ампула; 20000 МЕ/ампула	Не менее 1500 ЕД/ампула	—
Противоботулиническая Типа А	Не менее 2500 МЕ/мл или 10000 МЕ/ампула	Не менее 500 МЕ/мл	Не менее 10000 ЕД/ампула	Для 7-валентной: не менее 4500 МЕ/ампула Для бивалентной: 7500 МЕ/ампула
Типа В	Не менее 600 МЕ/мл или 5000 МЕ/ампула	Не менее 500 МЕ/мл	Не менее 10000 ЕД/ампула	Для 7-валентной: не менее 3300 МЕ/ампула Для бивалентной: 5500 МЕ/ампула
Типа Е	Не менее 1200 МЕ/мл или 10000 МЕ/ампула	Не менее 500 МЕ/мл	Не менее 10000 ЕД/ампула	Не менее 5100 МЕ/ампула
Типа С	—	—	—	Не менее 3000 МЕ/ампула
Типа F	—	—	Не менее 4000 ЕД/ампула	Не менее 3000 МЕ/ампула
Типа G	—	—	—	Не менее 600 МЕ/ ампула
Типа D	—	—	—	Не менее 600 МЕ/ ампула
Противогангренозная	Поливалентная: Не менее 700 МЕ/мл каждого типа гангренозных антитоксинов	Поливалентная: эдематиенс — не менее 1000 МЕ/мл; перфрингенс — не менее 1000 МЕ/мл; септикум — не менее 500 МЕ/мл	Для жидкого препарата: Не менее 500 ЕД каждого антитоксина (до сушки)	—
Перфрингенс	—	Моновалентная: α-токсин — не менее 1500 МЕ/мл	—	—
Септикум	—	α- токсин — не менее 1500 МЕ/мл	—	—
Эдематиенс	—	α- токсин — не менее 3750 МЕ/мл	—	—
Гистолитикум	—	—	—	—
Против яда змей*	<i>Vipera berus</i> Не менее 150 АЕ/доза	<i>Vipera ammodytes</i> , <i>Vipera aspis</i> , <i>Vipera ursinii</i> . Может быть как моновалентная, так и поливалентная. Должна нейтрализовать не менее 100 LD ₅₀ (на мышях) <i>V. ammodytes</i> , <i>V. aspis</i> и не менее 50 LD ₅₀ (на мышях) других видов гадюк	<i>Trimeresurus flavoviridis</i> (гадюковые). Не менее 6000 ЕД для каждого летального фактора	North American rattlesnake, одна ампула содержит антитоксина: <i>Bothrops asper</i> не менее 780 LD ₅₀ на мышях, <i>Crotalus durissus</i> 790 LD ₅₀ . North American Coral Snake не менее 250 LD ₅₀ . Black Widow Spider не менее 6000 LD ₅₀ . <i>Centruroides</i> (Scorpion) не менее 150 LD ₅₀

* Каждая страна устанавливает свой уровень антитоксических единиц, в зависимости от вида змей, обитающих в регионе.

** Противостолбнячная сыворотка выпускается в лечебных и профилактических дозировках: 3000, 10000, 20000, 50000 МЕ/мл.

стерильность зарубежных сывороток определяют методом мембранной фильтрации, в то время как в нашей стране возможность применения этого метода изучена недостаточно.

Показатель «Подлинность», который служит для подтверждения того, что сыворотка изготовлена из крови животного, указанного на этикетке и обладает строго определенной специфичностью в отношении возбудителя инфекции. Подлинность антитоксических сывороток российского производства определяется по их способности нейтрализовать соответствующий токсин (метод предусматривает использование животных), определение видовой специфичности этих сывороток не предусмотрено. Для большинства зарубежных антитоксинов определяют видовую принадлежность сыворотки методом электрофореза или методом двойной иммунодиффузии, иногда в комплексе с определением биологической активности.

Показатели «Прозрачность» и «Цветность», характеризующие физические свойства сывороток и позволяющие судить о качестве очистки препарата. Требования к российским сывороткам, в отличие от зарубежных, предусматривают определение степени прозрачности и цветности количественно колориметрическим методом.

Сравнительный анализ требований фармакопей демонстрирует различия в оценке чистоты и молекулярного состава препаратов. В Российской фармакопее общие требования к молекулярному составу антитоксических сывороточных препаратов не предусмотрены, тем не менее для отдельных противовирусных иммуноглобулинов данные требования разработаны. В Японской фармакопее определение этого параметра качества также не предусмотрено. Согласно ЕФ, молекулярный состав определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), препарат должен отвечать требованиям соответствующей монографии. В Фармакопее США представлены нормы содержания $F(ab')_2$ не менее 85 %, $F(ab)$ — не менее 7 %, фрагменты — менее 5 %. Определение проводят методом ВЭЖХ.

Зарубежные фармакопеи содержат требования по проведению испытаний по показателю «Чистота», который характеризуется наличием полосы гамма-глобулина при определении методом электрофореза [2]. В антитоксических сыворотках российского производства этот показатель не определяют.

В России степень очистки сывороток характеризуется величиной удельной активности, которая выражается в количестве единиц активности антитоксина на 0,1 г белка. Это расчетная величина. Для характеристики зарубежных препаратов данный показатель не предусмотрен.

Показатель «Осмоляльность» имеет существенное значение для препаратов, которые могут быть введены в организм человека в большом объеме и повлиять на изотоничность жидкостей организма. Определение осмоляльности является косвенным определением содержания солей и эксципиентов, добавленных в препарат в процессе производства. Осмоляльность плазмы крови — одна из основных констант организма человека. Снижение осмоляльности приводит к осмотическому отеку органов и тканей организма человека, в частности, к отеку мозга с развитием синдрома внутричерепной гипертензии. Повышение осмоляльности плазмы может приводить к дегидратации головного мозга. Единицей осмоляльности является осмоль на килограмм раствора (Осмоль/кг). В требованиях к российским и японским сывороточным препаратам величина осмоляльности не установлена.

В ЕФ и Фармакопее США требования к данному показателю определены — не ниже 240 мОсмоль/кг.

Сывороточные препараты зарубежных производителей могут выпускаться как в жидком, так и в лиофилизированном виде. Для лиофилизированных препаратов разработаны требования к показателю остаточной влажности («Вода»). Для российских антитоксических сывороток, выпускаемых только в жидком виде, предусмотрены требования к извлекаемому объему.

Принципы оценки биологической активности иммунобиологических препаратов основаны на оценке специфического эффекта, присущего данному виду препарата (табл. 3). Так, оценка активности сывороточных препаратов, содержащих готовые антитела против возбудителей инфекционных болезней или их токсинов, основана на определении концентрации специфических антител в тестах нейтрализации действия соответствующих инфекционных агентов или их токсинов.

Биологическую активность жидких препаратов характеризует содержание специфических антител в единице объема. Количественное содержание антител выражают в Международных единицах (МЕ). Антivenомы являются единственными сывороточными препаратами, специфическая активность которых не нормируется международными требованиями. Это связано с различиями в антигенной структуре ядов, получаемых от одного вида ядовитых животных, обитающих в разных географических регионах. Погодные условия, тип питания и сезонность также влияют на токсичность яда.

В России выпускают сыворотку против яда гадюки обыкновенной, активность которой выражают в условных антитоксических единицах (АЕ). За 1 АЕ принято такое количество сыворотки, которое нейтрализует 3 LD₅₀ (летальных доз) яда для мышей весом 16–18 г. Одна ампула препарата содержит 150 АЕ (1 лечебная доза).

Специфическая активность сыворотки рассчитана таким образом, что одна лечебная доза способна нейтрализовать в 1,8 раза больше яда, чем может ввести змея при укусе.

В соответствии с требованиями других стран, активность антivenомов выражают количеством LD₅₀ яда для мышей, нейтрализуемых 1 мл сыворотки.

Введение гетерологичной иммунной сыворотки может сопровождаться аллергическими реакциями [38]. Для определения гиперчувствительности человека к чужеродному белку перед введением сыворотки проводят внутрикожную пробу. В России в комплексе с любой сывороткой (кроме противоядной) выпускается сыворотка разведенная 1:100. В США сыворотка разведенная (1:10) для определения сенсibilизации к лошадиному белку выпускается в комплексе с некоторыми антivenомами. В остальных случаях разведения готовят из гипериммунной сыворотки согласно инструкции на частый препарат. В Европе и Японии производство разведенной сыворотки не предусмотрено, тест на гиперчувствительность проводят согласно инструкции на частный препарат.

Поскольку в России не зарегистрированы зарубежные антитоксические сыворотки, мы не располагаем возможностью экспериментально сравнить качество гетерологичных антитоксических сывороточных препаратов различных мировых производителей. Тем не менее, сравнительный анализ требований позволяет сделать вывод, что отечественные антитоксические сывороточные препараты по безопасности и эффективности не уступают зарубежным аналогам. Вместе с тем более полная харак-

теристика их качественных свойств будет полезна с целью дальнейшего повышения качества и снижения реактогенности. Только путем обеспечения соответствия отечественных ЛС требованиям мировых стандартов можно обеспечить их выход на международный фармацевтический рынок.

Таким образом, гармонизация требований Российской фармакопеи с международными требованиями может идти по пути унификации перечня показателей и методов их оценки.

Литература

- Васильев АН, Гавришина ЕВ, Ниязов РР, Снегирева АА, Адонин ВК. Введение в европейское законодательство о лекарственных средствах. Биологические лекарственные средства. Ремедиум 2013; (9): 49–54.
- European Pharmacopoeia 9.0; 2017. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
- Евразийская экономическая комиссия [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/XRVXN5>.
- Государственная фармакопея РФ. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
- Супотницкий МВ, Елапов АА, Борисевич ИВ, Кудашева ЭЮ, Климов ВИ, Лебединская ЕВ и др. Препараты крови человека и животных в аспекте показателей качества, эффективности и безопасности. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2015; (3): 33–48.
- Clinical Trials. A service of the U. S. National Institutes of Health [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/UHcqNz>.
- Dart RC, Seifert SA, Boyer LV, Clark RF, Hall E, McKinney P, et al. A randomized multicenter trial of crotalinae polyvalent immune Fab (ovine) antivenom for the treatment for crotaline snakebite in the (United States). Arch Intern Med. 2001; 161(16): 2030–6.
- WHO Model Lists of Essential Medicines. Geneva: WHO. [cited 2016 Oct 25] Available from: <https://goo.gl/JyoKi4>.
- Essential medicines. WHO. Available from: <https://goo.gl/IMj0jq>.
- Both L, White J, Mandal S, Efstratiou A. Access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. Euro Surveill. 2014; 19(24) pii: 20830. Available from: <https://goo.gl/ZsDVuY>.
- Государственный реестр лекарственных средств. Министерство здравоохранения Российской Федерации [официальный сайт]. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru>.
- Комиссаров АВ, Комоско ГВ, Лещенко АА, Луб МЮ, Пименов ЕВ, Дармов ИВ и др. Изучение процесса стерилизующей фильтрации жидкого противосибирязвенного лошадиного глобулина. Биотехнология 2002; (2): 66–74.
- Шевцов АН, Борисевич ИВ, Дармов ИВ, Кожухов ВВ, Луб МЮ, Козлова ТН и др. Сывороточный иммунобиологический препарат для профилактики и лечения сибирской язвы. Биотехнология 2011; (1): 42.
- Хмелев АЛ, Борисевич ИВ, Пантюхов ВБ, Пирожков АП, Сырмайтникова СИ, Шатохина ИВ и др. Использование морских свинок для оценки эффективности гетерологичного иммуноглобулина против боливийской геморрагической лихорадки. Вопросы вирусологии 2009; 54(4): 42–4.
- Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Мельников СА, Евсеев АА, Краснянский ВП, Максимов ВА. Получение иммуноглобулина к вирусу Марбург на основе сыворотки крови лошадей. Вопросы вирусологии 2008; 53(1): 39–41.
- Михайлов ВВ, Борисевич ИВ, Тиманькова ГД, Краснянский ВП, Потрываева НВ, Лебединская ЕВ, Черникова НК. Препарат, содержащий иммуноглобулин против лихорадки Эбола, из сыворотки крови лошадей, жидкий (иммуноглобулин Эбола). Патент Российской Федерации № 2130318 С1; 1996.
- Борисевич ИВ, Михайлов ВВ, Хамитов РА, Краснянский ВП, Черникова НК, Евсеев АА, Миронов АН. Использование обезьян для доклинической оценки специфических средств профилактики и лечения геморрагических лихорадок Эбола и Ласса. В кн.: Организм и окружающая среда: жизнеобеспечение и защита человека в экстремальных условиях. Мат. российской конференции. 2000. С. 210.
- Краснянский ВП, Градобоев ВН, Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Лебединская ЕВ, Черникова НК, Тиманькова ГД. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Ласса. Вопросы вирусологии 1997; 42(4): 168–71.
- Хмелев АЛ, Борисевич ИВ, Черникова НК, Махлай АА, Михайлов ВВ, Яковлев АК и др. Оценка безопасности профилактического использования иммуноглобулинов против вирусных геморрагических лихорадок из сывороток крови лошадей. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии 2012; (6): 103–6.
- Краснянский ВП, Михайлов ВВ, Лукин ЕП, Борисевич ИВ, Потрываева НВ, Мельников СА и др. Препарат, содержащий иммуноглобулин против веноульсального энцефаломиелита лошадей из сыворотки крови лошадей жидкий (иммуноглобулин лошадиный ВЭЛ). Патент Российской Федерации № 2261113 С1; 2003.
- British Pharmacopoeia 2009. Medicines and Healthcare Product Regulatory Agency (MHRA) [GB] [официальный сайт]. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com/>.
- The Japanese Pharmacopoeia, 15th ed. Available from: <http://gmpua.com/Pharmacopoeia/index.html>.
- U. S. Pharmacopoeial Convention [официальный сайт]. Available from: <http://www.usp.org>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/OSQjAP>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/6Fd7S4>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/ePGHji>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/oiR4Hk>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/RtCfS2>.
- U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/NbKl6m>.
- The Bioclon Institute S. A. de C. V., Mexico [официальный сайт]. Available from: <http://www.bioclon.com.mx>.
- Paniagua-Solis JF, Mancilla R, Gonzalez C, Alagon A. From Serotherapy to Fabotherapy. J Venom Anim Toxins 2001; 7(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-79302001000200036>.
- Sotelo N. Review of treatment and complications in 79 children with rattlesnake bite. Clin Pediatr (Phila) 2008; 47(5): 483–9.
- Darracq MA, Cantrell FL, Klauk B, Thornton SL. A chance to cut is not always a chance to cure- fasciotomy in the treatment of rattlesnake envenomation: A retrospective poison center study. Toxicol. 2015; 101: 23–6.
- Vazquez H, Chavez-Haro A, Garcia-Ubbelohde W, Mancilla-Nava R, Paniagua-Solis J, Alagon A, Sevcik C. Pharmacokinetics of a F(ab')₂ scorpion antivenom in healthy human volunteers. Toxicol. 2005; 46(7): 797–805.
- Борисевич ИВ, Кудашева ЭЮ, Перельгина ОВ, Миронов АН, Меркулов ВА, Бондарев ВП и др. Состояние проблемы стандартизации специфических иммуноглобулинов и антитоксических сывороток. Медицинская иммунология 2015; 17(5): 379.
- Бондарев ВП, Каргина ТМ, Саканян ЕИ. К вопросу оценки качества консервантов, используемых в современной практике производства иммунобиологических лекарственных препаратов. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2015; (1): 53–8.
- Алексеева ИА, Чупрынина РП, Перельгина ОВ, Миронов АН. Гармонизация требований к АКДС-вакцине в проекте ФС Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2013; 13(1): 36–9.
- Колбин АС. К вопросу о нежелательных реакциях при применении биологических лекарственных средств. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2013; (3): 29–32.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.

Перелыгина Ольга Викторовна. Начальник лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Комаровская Елена Игоревна. Эксперт 1-й категории лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Адрес для переписки: Перелыгина Ольга Викторовна; Pereligina@expmed.ru

Комаровская Елена Игоревна; Komarovskaya@expmed.ru

Comparative analysis of leading pharmacopoeias requirements for the quality of heterologous serum products

O. V. Perelygina, E. I. Komarovskaya

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia.

The article is devoted to a comparative analysis of requirements to the heterologous serum products stipulated in the world leading Pharmacopoeias: the US Pharmacopoeia, the European Pharmacopoeia, the British Pharmacopoeia, the Japanese Pharmacopoeia and the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. It was revealed that the range of antibacterial and antiviral heterologous serum products manufactured in the USA, Europe and Japan differs from that manufactured in Russia. Prevention and treatment of some infectious diseases abroad is mainly achieved with the help of human immunoglobulins, while the prevention of other infections, such as anthrax, is only achieved by vaccination. Nevertheless, heterologous serum products are still used in clinical practice all over the world. The range of such products is the same in all countries. Some of these products are included into the WHO Essential Medicines List. The results of the analysis demonstrate that Russian antitoxic serum products are not inferior to foreign analogues in terms of safety and efficacy. A more detailed characterization of Russian products could help harmonize requirements of Russian and foreign pharmacopoeias to these products and help Russian products enter the foreign market.

Key words: hyperimmune serum; heterologous immunoglobulins; antitoxic serum; antisera; antivenom; pharmacopoeia; harmonization; specific activity.

For citation: Perelygina OV, Komarovskaya EI. Comparative analysis of leading pharmacopoeias requirements for the quality of heterologous serum products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(1); 32–40.

References

- Vasil'ev AN, Gavrishina EV, Nijazov RR, Snegireva AA, Adonin VK. Introduction to European Law. *Remedium* 2013; September: 49–54 (in Russian).
- European Pharmacopoeia 9.0; 2017. Available from: <http://onlinen6.edqm.eu/ep900>.
- The Eurasian Economic Commission [official site]. Available from: <https://goo.gl/XRVXN5>.
- The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th edition. V. 1, 2, 3. Moscow; 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
- Supotnitsky MV, Elapov AA, Borisevich IV, Kudasheva EYu, Klimov VI, Lebedinskaya EV, et al. Blood preparations of humans and animals in terms of their quality, efficacy and safety. *Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2015; (3): 33–48 (in Russian).
- Clinical Trials. A service of the U. S. National Institutes of Health [официальный сайт]. Available from: <https://goo.gl/UHcqNz>.
- Dart RC, Seifert SA, Boyer LV, Clark RF, Hall E, McKinney P, et al. A randomized multicenter trial of crotalinae polyvalent immune Fab (ovine) antivenom for the treatment for crotaline snakebite in the United States. *Arch Intern Med.* 2001; 161(16): 2030–6.
- Model Lists of Essential Medicines. WHO. Available from: <https://goo.gl/JyoKi4>.
- Essential medicines. WHO. Available from: <https://goo.gl/IMj0jq>.
- Both L, White J, Mandal S, Efstratiou A. Access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. *Euro Surveill.* 2014; 19(24) pii: 20830. Available from: <https://goo.gl/ZsDVuY>.
- State Register of Medicines. Russian Federation Ministry of Health [official site]. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru> (in Russian).
- Komissarov AV, Komosko GV, Leshchenko AA, Lub MYu, Pimenov EV, Darmov IV, et al. The sterilizing filtration of horse anti-anthrax liquid globulin preparation. *Biotechnologiya* 2002; (2): 66–74 (in Russian).
- Shevtsov AN, Borisevich IV, Darmov IV, Kozhukhov VV, Lub MYu, Kozlova TN, et al. Serum immunobiological preparation for prophylaxis and therapy of anthrax. *Biotechnologiya* 2011; (1): 42–6 (in Russian).
- Khmelev AL, Borisevich IV, Pantyukhov VB, Pirozhkov AP, Syromyatnikova SI, Shatokhina IV, et al. Use of guinea pigs to evaluate the efficacy of a heterological immunoglobulin against Bolivian hemorrhagic fever. *Voprosy virusologii* 2009; 54(4): 42–4 (in Russian).
- Borisevich IV, Potryvayeva NV, Melnikov SA, Yevseyev AA, Krasnyansky VP, Maksimov VA. Design of equine serum-based Marburg virus immunoglobulin. *Voprosy virusologii* 2008; 53(1): 39–41 (in Russian).
- Mikhaylov VV, Borisevich IV, Timankova GD, Krasnyansky VP, Potryvayeva NV, Lebedinskaya EV, Chernikova NK. The preparation containing immunoglobulin against Ebola fever from horse blood serum liquid (immunoglobulin Ebola). Patent RUS 2130318 C1; 1996 (in Russian).
- Borisevich IV, Mikhaylov VV, Khamitov RA, Krasnyansky VP, Chernikova NK, Evseev AA, Mironov AN. Use of monkeys for the preclinical evaluation of specific means of prevention and treatment of hemorrhagic fevers Ebola and Lassa. In: *Organisms and environment: Human livelihoods protection in extreme conditions. Mater. Ross. Konf.* 2000. P. 210 (in Russian).
- Krasnyansky VP, Gradoboev VN, Borisevich IV, Potryvayeva NV, Lebedinskaya EV, Chernikova NK, Timankova GD. Development and study of the properties of immunoglobulin against Lassa fever. *Voprosy virusologii* 1997; 42(4): 168–71 (in Russian).
- Khmelev AL, Borisevich IV, Chernikova NK, Makhlay AA, Mikhaylov VV, Yakovlev AK, et al. Evaluation of safety of prophylactic use of im-

- munoglobulins against viral hemorrhagic fevers from horse blood sera. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii* 2012; (6): 103–6 (in Russian).
20. Krasnyansky VP, Mikhaylov VV, Lukin EP, Borisevich IV, Potryvaeva NV, Melnikov SA, et al. The preparation containing immunoglobulin against VEE from horse blood serum liquid (immunoglobulin against VEE from horse blood serum). Patent RUS 2261113 C1 2003 (in Russian).
 21. British Pharmacopoeia 2009. Medicines and Healthcare product Regulatory Agency (MHRA) [GB] [official site]. Available from: <https://www.pharmacopoeia.com>.
 22. The Japanese Pharmacopoeia, 15th ed. Available from: <http://gmpua.com/Pharmacopoeia/index.html>.
 23. U. S. Pharmacopeial Convention [official site]. Available from: <http://www.usp.org>.
 24. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/OSQjAP>.
 25. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/6Fd7S4>.
 26. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/ePGHji>.
 27. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/oiR4Hk>.
 28. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/RtCfS2>.
 29. U. S. Food & Drug Administration. U. S. Department of Health and Human Services [official site]. Available from: <https://goo.gl/NbKl6m>.
 30. The Bioclon Institute S. A. de C. V., Mexico [официальный сайт]. Available from: <http://www.bioclon.com.mx>.
 31. Paniagua-Solis JF, Mancilla R, Gonzalez C, Alagon A. From serotherapy to fabotherapy. *J Venom Anim Toxins*. 2001; 7(2) Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-79302001000200036>.
 32. Sotelo N. Review of treatment and complications in 79 children with rattlesnake bite. *Clin Pediatr (Phila)*. 2008; 47(5): 483–9.
 33. Darracq MA, Cantrell FL, Klauk B, Thornton SL. A chance to cut is not always a chance to cure-fasciotomy in the treatment of rattlesnake envenomation: A retrospective poison center study. *Toxicon*. 2015; 101: 23–6.
 34. Vazquez H, Chavez-Haro A, Garcia-Ubbelohde W, Mancilla-Nava R, Paniagua-Solis J, Alagon A, Sevcik C. Pharmacokinetics of a F(ab)2 scorpion antivenom in healthy human volunteers. *Toxicon* 2005; 46: 797–805.
 35. Borisevich IV, Kudasheva EYu, Perelygina OV, Mironov AN, Merkulov VA, Bondarev VP et al. State of the problem of standardization of specific immunoglobulins and antitoxic sera. *Meditinskaya immunologiya* 2015; 17(5): 379 (in Russian).
 36. Bondarev VP, Kargina TM, Sakanjan EI. On assessment of the quality of preservatives used in modern practice production of immunobiological drugs. *Vedomosti Scientific Centre of Expertise of Medical application*. 2015; (1): 53–8 (in Russian).
 37. Alekseeva IA, Chuprynina RP, Perelygina OV, Mironov AN. Harmonisation of requirements for the DPT vaccine in the project FA Vaccine Pertussis-DiphtheriaTetanus Toxoids Adsorbed. *Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2013; (1): 36–9 (in Russian).
 38. Kolbin AS. On the question of adverse reactions to administrating biological medicines. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertisy sredstv meditsinskogo primeneniya* 2013; (3): 29–32 (in Russian).

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

Perelygina OV. Head of the Laboratory of Toxoids and Antitoxic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.

Komarovskaya EI. 1st professional category expert of the Laboratory of Toxoids and Antitoxic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.