

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Аллергены

ОФС.1.7.1.0001.15

Вводится взамен ГФ X, ст.43

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на препараты аллергенов природного происхождения.

КЛАССИФИКАЦИЯ

Аллергены представляют собой водно-солевые экстракты белково-полисахаридных комплексов, выделенных из широкого круга веществ – источников природных аллергенов, которые являются веществами, вызывающими или провоцирующими аллергические заболевания. Препараты аллергенов предназначены для *in vivo* диагностики и лечения аллергических заболеваний, опосредованных иммунологическими реакциями повышенной чувствительности (IgE-зависимые) к аллергенам различной природы.

Аллергены классифицируют на неинфекционные (пыльцевые, бытовые, эпидермальные, пищевые, инсектные) и инфекционные (грибковые, бактериальные). Аллергены, обработанные химическими веществами (например, формальдегидом или цианатом калия), называют аллергоидами.

Аллергены и аллергоиды производят в виде монопрепаратов, содержащих экстракт из сырья одного вида, а также в виде микст-препаратов, содержащих экстракты из нескольких видов сырья.

В качестве консерванта в состав препаратов аллергенов могут входить фенол (2,0 – 4,0 мг/мл) или формальдегид (не более 0,14 мг/мл).

Препараты на основе аллергенов могут выпускаться в виде парентеральных, пероральных, сублингвальных, ингаляционных и

офтальмологических лекарственных препаратов или препаратов для проведения кожных проб.

Для диагностических целей используют немодифицированные экстракты аллергенов или экстракты в 50 % растворе глицерина для кожных проб. Для провокационных аллергологических тестов аллергены могут быть приготовлены разведением готовых форм аллергенов до минимальных концентраций непосредственно перед введением интраназальным, конъюнктивальным или эндобронхиальным способом.

Для иммунотерапии применяют инъекционные формы немодифицированных и модифицированных экстрактов аллергенов (аллергоиды), аллергены, адсорбированные на различных носителях (алюминия гидроксид, кальция фосфат или L-тирозин), экстракты аллергенов в 50 % растворе глицерина для приема внутрь или в виде таблеток для сублингвального использования.

ПРОИЗВОДСТВО

Технология производства должна обеспечивать безопасность, эффективность и стабильность аллергенов.

Характеристика исходных материалов

Исходными материалами для приготовления препаратов на основе аллергенов являются пыльца растений, микрофлора жилых и служебных помещений, эпителий животных, пищевые продукты, плесневые грибы, бактерии. Условия сбора, предварительная обработка, условия хранения исходных материалов должны обеспечивать постоянный качественный и количественный состав и стандартность в максимально возможной степени.

Пыльцевые аллергены

Сырьем для изготовления пыльцевых аллергенов и аллергоидов является растительная пыльца.

Сбор пыльцы проводят в период цветения. Созревание пыльцы обеспечивают в определенных условиях (поллинариях), сушат до остаточной влажности ($3 \pm 0,5$) %. Пыльцу каждого вида растений характеризуют по

морфологическим признакам (диаметр пыльцевого зерна, структура экзимы, форма пыльцевого зерна). Допускается не более 10 % примесей других видов пыльцы (определяется микроскопическим способом).

Для стандартизации сырья при изготовлении одной серии препарата рекомендуется использование пыльцы, собранной в течение 2 – 3 календарных лет, в связи с различными климатическими и гидрологическими условиями созревания пыльцы.

Содержание тяжелых металлов в сульфатной золе из 1 г пыльцы (точная навеска) – не более 0, 001 %. Зараженность растительной пыльцы амбарными вредителями не должна превышать I степени чистоты.

Аллергены жилых и служебных помещений (бытовые аллергены)

Сырье, используемое для изготовления бытовых аллергенов (домашняя пыль, библиотечная пыль, перо подушек), собирают отдельно для каждого наименования аллергена. Домашнюю пыль собирают путем сбора бытовым пылесосом с верхних поверхностей предметов, мебели, постели (запрещается собирать пыль с пола и ковров) в квартирах больных, имеющих установленную аллергологической службой аллергию к данному сырью. Домашняя пыль, перо подушек, библиотечная пыль не должны содержать посторонние включения. Сбор и обработка перечисленного сырья проводится в соответствии с требованиями указанными в фармакопейной статье или в нормативной документации на конкретные препараты.

Клещи домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D.farinae* культивируют в течение 3 – 4 мес в среде (домашняя пыль) при определенных заданных условиях температуры, влажности, ежедневной аэрации, контроле видовой принадлежности. Клещи должны быть отделены от среды культивирования и гомогенизированы для последующего выполнения операционных процессов.

Вид клеща удостоверяется паспортом подлинности (отсутствием клещей другого вида), в котором указывают вид сырья, сроки культивирования, результаты контроля сырья.

Сырьем для изготовления аллергена из дафний должны служить пресноводные рачки дафнии магна (*Daphnia magna*).

Эпидермальные аллергены

Сырьем для изготовления эпидермальных аллергенов является шерсть животных (кошки, собаки, овцы, кролика, морской свинки), перхоть лошади, волосы человека. У животных, используемых для приготовления эпидермального сырья, должны быть ветеринарные паспорта, подтверждающие их здоровье, отсутствие инфекционных агентов и гельминтов. Сырье не должно содержать посторонних включений и шерсти других животных.

Пищевые аллергены

Сырье для их изготовления (говядина, мясо курицы или утки, рыба, крупы, овощи, фрукты) получают из хозяйств, в которых не зарегистрированы вирусные, бактериальные и другие заболевания.

Инсектные аллергены

Различные виды насекомых (пчелы, осы, комары и т.п.), из которых экстрагируется аллерген, должны быть идентифицированы и описаны. Методы сбора насекомых и экстракция яда должны гарантировать надлежащее качество исходных материалов.

Грибковые аллергены

Представляют собой водно-солевые растворы гликопротеидов, полученные из высушенного и обезжиренного мицелия соответствующего вида грибов с последующим экстрагированием соевым раствором и спиртовым фракционированием. Содержание биологически активных примесей, таких как микотоксины, в плесневых грибах должно быть минимизировано.

Бактериальные аллергены

Представляют собой экстракт смеси инактивированных фенолом клеток бактерий и продуктов их метаболизма. Штаммы бактерий должны

быть зарегистрированы и быть типичными по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам.

Получение аллергенного экстракта

Аллергены получают путем экстракции исходного сырья с использованием методов, направленных на сохранение биологических свойств аллергенных компонентов. Сырье сушат, обезжиривают и выделяют белково-полисахаридные комплексы с помощью водно-солевой экстракции с последующим диализом, концентрированием, центрифугированием и стерилизующей фильтрацией, обеспечивающей получение продукта, свободного от контаминации, которая может повлиять на его безопасность и качество.

Контрольные испытания аллергенных экстрактов

Аллергенный экстракт должен удовлетворять требованиям по физическим свойствам, стерильности, значению рН, общего белка/белкового азота, специфической/аллергенной активности, аномальной токсичности. Если в готовой форме проведение испытания по показателю «Аномальная токсичность» невозможно (например, препараты с 40–60 % содержанием глицерина, алюминия гидроксида или кальция фосфата), то этому испытанию подвергается экстракт.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ

По содержанию единиц белкового азота (protein nitrogen unit – PNU) в 1мл препарата. 1 PNU – международная единица, принятая для выражения концентрации белкового азота в аллергенах, равная 0,00001 мг белкового азота. В основе стандартизации по системе PNU лежит положение о том, что большинство аллергенов имеют белковую природу. Однако содержание белкового азота в полной мере не отражает биологическую активность аллергенов, т.к. не все экстрагируемые белки обладают аллергенными свойствами. В системе стандартизации по PNU специфическую активность препаратов необходимо подтверждать кожными пробами.

По биологической активности, которую определяют относительно активности стандартного образца (СО) аллергена. Его биологическую активность устанавливают тестами *in vivo*. СО может использоваться при контроле серий промежуточных аллергенных продуктов (аллергенный экстракт) и при контроле серии конечных препаратов аллергенов.

Характеристика СО

СО представляет собой одну из серий аллергенного экстракта или готового препарата аллергена, которая должна быть охарактеризована по следующим показателям: содержанию общего белка, белковому профилю, аллергенным компонентам, специфической активности. Диапазон характеристик СО зависит от природы исходного материала, сведений о его аллергенных компонентах и наличия используемых реактивов.

Общий белок определяют любым подходящим методом, изложенным в ОФС «Определение белка».

Белковый профиль должен быть охарактеризован одним из следующих методов – иммуноэлектрофорезом в полиакриламидном геле с натрием додецилсульфатом (SDS-PAGE электрофорез), иммуноэлектрофорезом, капиллярным электрофорезом, хроматографией, масс-спектрометрией.

Подлинность. Выявление специфических аллергенных компонентов осуществляется методами вестерн-блот или иммуноферментного анализа (ИФА) (ОФС «Определение подлинности препаратов аллергенов») с использованием специфических IgE-содержащих сывороток крови от лиц, сенсibilизированных к исследуемому аллергену.

Отдельные аллергенные компоненты (главные аллергены) могут быть обнаружены с помощью моноклональных антител.

Количественное определение главных аллергенов проводят с помощью ИФА с использованием соответствующих одноименных стандартов.

Биологическую активность первой серии СО определяют методами *in vivo* (например, кожные пробы) у 15 – 20 лиц, сенсibilизированных к

исследуемому аллергену. Результаты исследования выражают в условных единицах биологической активности. Биологическую активность последующих серий СО оценивают конкурентным иммуноанализом (ИФА, РАСТ, иммуноблоттинг и т.п.), основанном на ингибировании связывающей способности специфических антител иммуноглобулина Е.

Получение готового продукта

Аллергенный экстракт разводят до конечных концентраций белка, установленных для каждого наименования готового препарата, разливают и укупоривают, обеспечивая стерильность и сохранение активности и физико-химических свойств препарата на протяжении срока годности.

ИСПЫТАНИЯ

Диапазон показателей, по которым проводят испытания, зависит от формы выпуска препаратов (лиофилизаты, растворы, суспензии, таблетки).

Описание. Приводится описание соответствующей лекарственной формы препарата. Испытание проводят визуально.

Подлинность. В аллергенах и аллергоидах должны быть обнаружены специфические аллергенные компоненты. Испытания проводят по ОФС «Определение подлинности препаратов аллергенов» или любым подходящим методом, изложенным в нормативной документации.

Прозрачность (для растворов). Прозрачный или слегка опалесцирующий раствор. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей» с использованием эталонов сравнения, как указано в нормативной документации.

pH (для растворов и суспензий). Допустимое значение pH для аллергенов – от 6,5 до 7,3, аллергоидов – от 7,3 до 7,7, если в нормативной документации не указаны другие требования. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

Механические включения (для растворов и суспензий). Видимые механические включения должны соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

Размер частиц (для суспензий). Нормативные требования указывают в фармакопейной статье и нормативной документации. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Инъекционные лекарственные формы. Лекарственные средства для парентерального применения».

Распадаемость (для таблеток). Не более 2 мин. Определение проводят в соответствии с ОФС «Распадаемость таблеток и капсул».

Время седиментационной устойчивости (для суспензий). Нормативные требования указываются в фармакопейной статье и нормативной документации. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Инъекционные лекарственные формы. Лекарственные средства для парентерального применения».

Извлекаемый объем (для растворов, суспензий). Должен быть не менее номинального. Определение проводят по ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

Вода (для лиофилизатов и таблеток). Не более 5 %. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Определение воды» методом титрования по К. Фишеру или гравиметрическим методом в соответствии с ОФС «Определение потери в массе при высушивании».

Общий белок (для препаратов, стандартизированных в единицах биологической активности). Нормативные требования указываются в нормативной документации. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Определение белка».

Белковый азот (для препаратов, стандартизированных в единицах PNU) – от 3000 до 12500 PNU. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение белка» методом Къельдаля или колориметрическим методом с реактивом Несслера.

Стерильность (для инъекционных форм). Лекарственные препараты должны быть стерильными. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методами прямого посева или мембранной фильтрации.

Микробиологическая чистота (для пероральных и сублингвальных форм) – категория 3А. Определение проводят в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

Аномальная токсичность (растворы для инъекций). Лекарственные препараты должны быть не токсичны. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Указывают тест-дозы, способ введения и время наблюдения за животными, их вид и массу.

Специфическая/аллергенная активность

Специфическая активность, остаточная аллергенность (тесты *in vivo*). Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение специфической активности препаратов аллергенов методом кожных проб».

Аллергенная активность (тесты *in vitro*) – 50 – 150 % от указанного количества. Аллергенную активность препаратов определяют с использованием СО методами конкурентного иммуноанализа с использованием специфических сывороток, содержащих IgE-антитела.

Фенол (для аллергенов). От 2,0 до 4,0 мг/мл. Определение проводят по ОФС «Количественное определение фенола спектрофотометрическим методом в иммунобиологических лекарственных препаратах».

Формальдегид (для алергоидов). Не более 0,14 мг/мл. Определение проводят по ОФС «Количественное определение формальдегида в иммунобиологических лекарственных препаратах».

Глицерин (для пероральных и сублингвальных препаратов) – от 40 до 60 %. Определение проводят методом, изложенным в фармакопейной статье или нормативной документации.

Алюминий (для суспензий). От 80 до 120 % от указанного количества. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение ионов алюминия в сорбированных иммунобиологических лекарственных препаратах».

Кальций (для суспензий) От 80 до 120 % от указанного количества. Определение проводят любым подходящим методом, указанным в фармакопейной статье или нормативной документации.

РАСТВОРИТЕЛИ И РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ С ПРЕПАРАТОМ

Препараты аллергенов могут выпускаться в комплекте с растворителями и реагентами. Растворители и реагенты подвергаются испытаниям, аналогичным испытаниям для основного препарата (аллергена/аллергоида).

Тест-контрольная жидкость (для бытовых, пищевых, пылевых, эпидермальных аллергенов) – фосфатно-солевой буферный раствор, рН от 6,75 до 7,25.

Назначение – отрицательный контроль при постановке кожных проб.

Разводящая жидкость (для бытовых аллергенов). Фосфатно-солевой буферный раствор, рН от 6,75 до 7,25.

Назначение – для разведения бытовых аллергенов при проведении специфической иммунотерапии.

Разводящая жидкость (для пылевых аллергенов). Фосфатно-солевой буферный раствор, рН от 6,8 до 7,2.

Назначение – для разведения пылевых аллергенов при проведении специфической иммунотерапии.

Разводящая жидкость (для аллергоидов) – 0,1 М фосфатный буферный раствор, рН от 7,3 до 7,7.

Назначение – разведение аллергоидов при проведении специфической иммунотерапии.

Упаковка и маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Иммунобиологические лекарственные препараты». Необходимо указание «Отпускается по рецепту».

Транспортирование и хранение. В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Жидкие лекарственные препараты не допускается замораживать.