

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

01/2012:0918

IMMUNOGLOBULINE HUMAINE NORMALE POUR ADMINISTRATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE

Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum

DÉFINITION

Préparation liquide ou cryodesséchée stérile contenant des immunoglobulines, principalement de l'immunoglobuline G (IgG). D'autres protéines peuvent être présentes. L'immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse contient les anticorps IgG de sujets normaux. Cette monographie ne s'applique pas aux produits préparés intentionnellement de façon à contenir des fragments d'IgG ou de l'IgG chimiquement modifiée.

L'immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse est obtenue à partir de plasma conforme à la monographie *Plasma humain pour fractionnement (0853)*. La préparation peut contenir des excipients tels que des stabilisants.

PRODUCTION

La méthode de préparation comprend une ou plusieurs étapes dont la capacité à éliminer ou inactiver les agents infectieux connus a été démontrée. Si des substances sont utilisées à des fins d'inactivation virale, il doit être démontré que leurs résidus éventuels dans le produit fini n'ont pas d'effet indésirable sur les patients traités avec l'immunoglobuline. Le procédé de préparation comprend également une ou plusieurs étapes dont la capacité à éliminer les agents thrombogènes a été démontrée. Une attention particulière est portée à l'identification des facteurs de coagulation activés et de leurs zymogènes, ainsi qu'aux étapes du procédé susceptibles d'entraîner leur activation. La présence d'autres agents procoagulants susceptibles d'être introduits via le procédé de production est également à considérer.

Il doit avoir été démontré, par des essais appropriés sur animaux et une évaluation lors des essais cliniques, que le produit est bien toléré lorsqu'il est administré par voie intraveineuse.

L'immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse est préparée à partir d'un mélange de plasma provenant d'au moins 1000 donateurs, selon une méthode dont il a été démontré qu'elle permet d'obtenir un produit qui :

- 1 – ne transmet pas d'infection,
- 2
- 3 – à une concentration en immunoglobuline de 50 g/L, contient au moins 2 anticorps
- 4 (un antiviral et un antibactérien), pour lesquels il existe un étalon international ou une
- 5 préparation de référence, présents à une concentration au moins 3 fois plus élevée que
- 6 dans le mélange de plasma initial,
- 7 – présente une distribution définie en sous-classes d'immunoglobuline G,
- 8 – satisfait à l'essai de la fonction Fc de l'immunoglobuline (2.7.9),
- 9 – ne présente pas d'activité thrombogène (procoagulante).

10 L'immunoglobuline humaine normale pour administration par voie intraveineuse est
11 préparée soit sous forme de solution stabilisée, soit sous forme cryodesséchée. Dans les
12 2 cas, la préparation est filtrée sur une membrane antibactérienne. Elle peut ensuite
13 être cryodesséchée ; les récipients sont fermés sous vide ou sous gaz inerte. Aucun
14 antibiotique n'est ajouté au plasma utilisé. Aucun conservateur antimicrobien n'est ajouté
15 lors du fractionnement ou au stade de la solution vrac finale.

17 La stabilité de la préparation est démontrée par des essais appropriés effectués lors des
18 études de développement.

19 CARACTÈRES

21 *Aspect :*

- 22 – *préparation liquide* : limpide ou faiblement opalescente, incolore ou jaune pâle,
- 23
- 24 – *préparation cryodesséchée* : poudre ou masse solide friable, blanche ou légèrement
- 25 jaune, hygroscopique.

26 *Dans le cas des préparations cryodesséchées, reconstituez la préparation selon les*
27 *indications de l'étiquette immédiatement avant d'effectuer l'identification et les essais,*
28 *sauf ceux de solubilité et de teneur en eau.*

30 IDENTIFICATION

31 Examinez la préparation par une technique d'immunoélectrophorèse appropriée. A l'aide
32 d'un immunosérum du sérum humain normal, comparez le sérum humain normal et la
33 préparation à examiner, dilués à une concentration en protéines de 10 g/L. Le composant
34 principal de la préparation à examiner correspond au composant IgG du sérum humain
35 normal. D'autres protéines plasmatiques peuvent être présentes en faible quantité dans la
36 préparation à examiner ; si de l'albumine humaine a été ajoutée comme stabilisant, elle
37 peut être visible comme un composant important.

38 ESSAI

39 **Solubilité.** Dans le cas des préparations cryodesséchées, ajoutez au contenu d'un
40 récipient le volume de liquide indiqué sur l'étiquette, à la température recommandée. La
41 préparation se dissout complètement en 30 min à 20-25 °C.

42 **pH (2.2.3) :** 4,0 à 7,4.

43 Diluez la préparation à examiner avec une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L de
44 façon à obtenir une concentration en protéines de 10 g/L.

45 **Osmolalité (2.2.35) :** au minimum 240 mosmol/kg.

1 **Protéines totales.** La teneur en protéines de la préparation n'est pas inférieure à 30 g/L,
2 et la quantité de protéines est comprise entre 90 pour cent et 110 pour cent de la valeur
3 indiquée sur l'étiquette.

4 Diluez la préparation à examiner avec une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L de
5 façon à obtenir une solution contenant environ 15 mg de protéines dans 2 mL. Dans un
6 tube à centrifuger à fond rond, introduisez 2,0 mL de cette solution, puis ajoutez 2 mL
7 d'une solution de *molybdate de sodium R* à 75 g/L et 2 mL d'un mélange de 1 volume
8 d'*acide sulfurique exempt d'azote R* et de 30 volumes d'*eau R*. Agitez, centrifugez
9 pendant 5 min, puis jetez le surnageant et laissez égoutter le tube renversé sur du papier
10 filtre. Déterminez la teneur en azote du culot de centrifugation par la méthode de
11 minéralisation par l'acide sulfurique (2.5.9). Calculez la teneur en protéines en multipliant
12 le résultat par 6,25.

13
14 **Composition en protéines.** Electrophorèse de zone (2.2.31).

15 Utilisez comme support des bandelettes de gel d'acétate de cellulose approprié ou de
16 gel d'agarose approprié, et comme solution d'électrolyte la *solution tampon barbital*
17 *pH 8,6 R1*.

18 Si le support utilisé est de l'acétate de cellulose, la méthode décrite ci-dessous peut être
19 utilisée. Dans le cas des gels d'agarose généralement utilisés dans le cadre des systèmes
20 automatisés, il convient de se référer aux instructions du fabricant.

21
22 *Solution à examiner.* Diluez la préparation à examiner avec une solution de *chlorure de*
23 *sodium R* à 9 g/L de façon à obtenir une concentration en immunoglobuline de 30 g/L.

24 *Solution témoin.* Reconstituez et diluez de l'*immunoglobuline humaine pour*
25 *électrophorèse PBR* avec une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L de façon à obtenir
26 une concentration en protéines de 30 g/L.

27 Déposez sur une bandelette 4,0 µL de solution à examiner en bande de 10 mm ou, si
28 la bandelette utilisée est plus étroite, déposez 0,4 µL par millimètre. Sur une autre
29 bandelette, déposez dans les mêmes conditions le même volume de solution témoin.
30 Appliquez un champ électrique approprié tel que, dans un électrophorégramme témoin
31 obtenu avec du sérum humain normal, la bande de l'albumine migre d'au moins 30 mm.
32 Traitez les bandelettes avec de la *solution de noir amido 10B R* pendant 5 min, puis avec
33 un mélange de 10 volumes d'*acide acétique glacial R* et de 90 volumes de *méthanol R* sans
34 dépasser le temps nécessaire à la décoloration du support. Développez la transparence du
35 support avec un mélange de 19 volumes d'*acide acétique glacial R* et de 81 volumes de
36 *méthanol R*. Mesurez l'absorbance des bandes à 600 nm à l'aide d'un instrument ayant
37 une réponse linéaire sur l'intervalle de mesure. Effectuez 3 fois la mesure par bandelette
38 et calculez la moyenne des lectures par bandelette.

39
40 *Conformité du système :* dans l'électrophorégramme obtenu avec la solution témoin, la
41 proportion de protéines contenues dans la bande principale est dans les limites indiquées
42 sur la notice accompagnant la préparation de référence.

43 *Résultats :* dans l'électrophorégramme obtenu avec la solution à examiner, au maximum
44 5 pour cent des protéines ont une mobilité différente de celle de la bande principale.
45 Cette limite ne s'applique pas aux préparations stabilisées par l'albumine ; dans ce cas,
46 un essai de composition en protéines est effectué pendant la fabrication avant l'addition
47 du stabilisant.

1 **Distribution de taille moléculaire.** Chromatographie d'exclusion (2.2.30).

2 *Solution à examiner.* Diluez la préparation à examiner avec une solution de *chlorure*
3 *de sodium R* à 9 g/L de façon à obtenir une concentration appropriée au système
4 chromatographique utilisé. Une concentration de 4-12 g/L et l'injection de 50-600 µg
5 de protéines conviennent généralement.

6 *Solution témoin.* Diluez de l'*immunoglobuline humaine (taille moléculaire) PBR* avec
7 une solution de *chlorure de sodium R* à 9 g/L de façon à obtenir la même concentration
8 en protéines que dans la solution à examiner.

9 *Colonne :*

10 – *dimensions :* $l = 0,6$ m, $\varnothing = 7,5$ mm, ou $l = 0,3$ m, $\varnothing = 7,8$ mm,

11 – *phase stationnaire :* *gel de silice hydrophile pour chromatographie R⁽¹⁾* de qualité
12 appropriée au fractionnement de protéines globulaires de masse moléculaire relative
13 comprise entre 10 000 et 500 000.

14 *Phase mobile :* dissolvez 4,873 g de *phosphate disodique dihydraté R*, 1,741 g de
15 *phosphate monosodique monohydraté R*, 11,688 g de *chlorure de sodium R* et 50 mg
16 d'*azide de sodium R* dans 1 L d'*eau R*.

17 *Débit :* 0,5 mL/min.

18 *Détection :* spectrophotomètre à 280 nm.

19 *Identification des pics :* dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin, le
20 pic principal correspond au monomère de l'IgG et il apparaît un pic correspondant au
21 dimère à une rétention relative d'environ 0,85 par rapport au pic principal. Identifiez
22 les pics du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner par comparaison au
23 chromatogramme obtenu avec la solution témoin ; les pics ayant un temps de rétention
24 inférieur à celui du dimère correspondent aux polymères et aux agrégats.

25 *Résultats :* dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner :

26 – *temps de rétention :* pour le monomère et pour le dimère, la rétention relative par
27 rapport au pic correspondant du chromatogramme obtenu avec la solution témoin
28 est de $1 \pm 0,02$;

29 – *surface des pics :* la somme de la surface des pics dus au monomère et au dimère
30 représente au minimum 90 pour cent de la surface totale du chromatogramme, et la
31 somme de la surface des pics dus aux polymères et aux agrégats représente au maximum
32 3 pour cent de la surface totale du chromatogramme. Cette exigence ne s'applique
33 pas aux préparations auxquelles de l'albumine a été ajoutée en tant que stabilisant ;
34 dans le cas des préparations stabilisées par l'albumine, un essai de distribution de
35 taille moléculaire est effectué pendant la fabrication avant l'addition du stabilisant.

36 **Activité anticomplémentaire (2.6.17).** La proportion de complément consommé n'est pas
37 supérieure à 50 pour cent (1 CH₅₀ par milligramme d'immunoglobuline).

38 **Activateur de prékallikréine (2.6.15) :** au maximum 35 UI/mL, calculé par rapport à une
39 dilution de la préparation à examiner contenant 30 g/L d'immunoglobuline.

40 **Hémagglutinines anti-A et anti-B (2.6.20, méthode B).** La préparation à examiner satisfait
41 à l'essai.

42 **Anticorps anti-D (2.6.26).** La préparation à examiner satisfait à l'essai.

43 (1) Les colonnes TSK G3000 SW ($l = 0,6$ m, $\varnothing = 7,5$ mm) et TSK G3000 SW_{XL} ($l = 0,3$ m, $\varnothing = 7,8$ mm) conviennent.

1 **Anticorps dirigés contre l'antigène de surface de l'hépatite B** : au minimum 0,5 UI par
2 gramme d'immunoglobuline, déterminé par une méthode immunochimique appropriée
3 (2.7.1).

4 **Immunoglobuline A** : au maximum la valeur maximale indiquée sur l'étiquette, déterminé
5 par une méthode immunochimique (2.7.1) appropriée.
6

7 **Eau**. Déterminée par une méthode appropriée telle que le semi-microdosage de l'eau
8 (2.5.12), la perte à la dessiccation (2.2.32) ou la spectrophotométrie dans le proche
9 infrarouge (2.2.40), la teneur en eau est comprise dans les limites approuvées par
10 l'Autorité compétente.

11 **Stérilité** (2.6.1). La préparation à examiner satisfait à l'essai.

12 **Pyrogènes** (2.6.8) ou **Endotoxines bactériennes** (2.6.14). La préparation à examiner
13 satisfait à l'essai des pyrogènes ou, de préférence et sous réserve de justification et
14 d'autorisation, à un essai *in vitro*, validé, tel que l'essai des endotoxines bactériennes.
15

16 Pour l'essai des pyrogènes, injectez à chaque lapin, par kilogramme de masse corporelle,
17 un volume de préparation à examiner correspondant à 0,5 g d'immunoglobuline mais
18 ne dépassant pas 10 mL.

19 Si l'essai utilisé est celui des endotoxines bactériennes, la préparation à examiner contient
20 moins de 0,5 UI d'endotoxines par millilitre pour les solutions ayant une teneur en
21 protéines inférieure ou égale à 50 g/L, et moins de 1,0 UI d'endotoxines par millilitre pour
22 les solutions ayant une teneur en protéines supérieure à 50 g/L et inférieure ou égale à
23 100 g/L.
24

25 CONSERVATION

26 Préparations liquides : en récipient de verre incolore, à l'abri de la lumière et à la
27 température indiquée sur l'étiquette.

29 Préparations cryodesséchées : en récipient de verre incolore, étanche, à l'abri de la lumière
30 et à une température ne dépassant pas 25 °C.

32 ÉTIQUETAGE

33 L'étiquette indique :

- 34 – dans le cas des préparations liquides, le volume de préparation contenu dans le
35 récipient et la teneur en protéines, en grammes par litre,
- 36 – dans le cas des préparations cryodesséchées, la quantité de protéines contenue dans le
37 récipient,
- 38 – la quantité d'immunoglobuline contenue dans le récipient,
- 39 – la voie d'administration,
- 40 – dans le cas des préparations cryodesséchées, le nom ou la composition et le volume du
41 liquide de reconstitution à ajouter,
- 42 – la distribution des sous-classes d'immunoglobuline G présentes dans la préparation,
- 43 – dans les cas appropriés, la quantité d'albumine ajoutée comme stabilisant,
- 44 – la teneur maximale en immunoglobuline A.