



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНЗДРАВ РОССИИ)

П Р И К А З

19 июля 2021

№ 787

Москва

Об утверждении фармакопейной статьи

В соответствии со статьей 7 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2010, № 16, ст. 1815; 2014, № 52, ст. 7540) п р и к а з ы в а ю:

1. Утвердить прилагаемую фармакопейную статью ФС.3.3.2.0016.21 «Иммуноглобулин человека против COVID-19, раствор для внутривенного введения Immunoglobulinum humanum contra COVID-19, solutio pro injectione intravenosa» и ввести ее в действие с 19 июля 2021 года.

2. Установить, что фармакопейная статья, утвержденная настоящим приказом, составляет приложения к Государственной фармакопее XIV издания.

3. Установить, что до 1 января 2022 года нормативная документация на зарегистрированный лекарственный препарат для медицинского применения и входящую в его состав фармацевтическую субстанцию подлежит приведению в соответствие с фармакопейной статьей, утвержденной настоящим приказом.

Министр

М.А. Мурашко

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Иммуноглобулин человека против COVID-19, раствор для внутривенного введения	ФС.3.3.2.0016.21
Immunoglobulinum humanum contra COVID-19, solutio pro injectione intravenosa	Вводится впервые

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат иммуноглобулина человека против COVID-19, раствор для внутривенного введения.

Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Лекарственные формы для парентерального применения», ОФС «Иммуноглобулины человека» и ниже приведённым требованиям.

Действующим веществом препарата являются иммуноглобулины класса G, обладающие активностью антител к SARS-CoV-2.

Препарат содержит:

не менее 95 % иммуноглобулина класса G, обладающего активностью антител к SARS-CoV-2;

не менее 160 АКЕ от заявленной активности антител к SARS-CoV-2 в ИФА;

не менее 85,0 % и не более 115,0 % от заявленного количества глицина.

Препарат не содержит консервантов и антибиотиков.

ПРОИЗВОДСТВО

Для производства иммуноглобулина человека против COVID-19 для внутривенного введения используется:

- карантинизированная плазма крови доноров, содержащая антитела IgG, нейтрализующие вирус SARS-CoV-2, соответствующая требованиям ФС «Плазма человека для фракционирования»;
- некарантинизированная плазма крови доноров, содержащая антитела IgG, нейтрализующие вирус SARS-CoV-2, и соответствующая по показателям качества ФС «Плазма человека для фракционирования», при условии наличия в технологическом процессе производства не менее 4 валидированных стадий удаления и инактивации оболочечных и безоболочечных вирусов. Используется в случаях, обусловленных сложной эпидемической ситуацией, связанной с COVID-19;
- патогенредуцированная плазма крови доноров, содержащая антитела IgG к вирусу SARS-CoV-2, соответствующая по показателям качества ФС «Плазма человека для фракционирования». Используется в случаях, обусловленных сложной эпидемической ситуацией, связанной с COVID-19.

Технологический процесс производства препарата иммуноглобулина человека против COVID-19 включает процедуры инактивации и/или удаления вирусов: фракционирование этанолом на холоду, обработку сольвент/детергентной смесью, выдерживание при pH 4,0-4,5 и температуре 37 °C в течение 48 часов, хроматографическую очистку, противовирусную фильтрацию (через фильтр с размером пор 20 нм).

Каждая серия иммуноглобулина производится из пула плазмы доноров, содержащих антитела против SARS-CoV-2, индивидуально проверенных на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С, антител к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1, антител к возбудителю сифилиса (*Treponema pallidum*). Плазма доноров, объединенная в минипулы и производственный пул, дополнительно проверяется на отсутствие РНК вируса гепатита С, РНК вируса

иммунодефицита человека и ДНК вируса гепатита В методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В производстве используется плазма только с отрицательными результатами тестирования.

Производство иммуноглобулина человека против COVID-19 для внутривенного введения должно осуществляться с соблюдением требований, указанных в ОФС «Иммуноглобулины человека», ФС «Иммуноглобулин человека нормальный для внутривенного введения» и ОФС «Вирусная безопасность лекарственных препаратов, полученных из плазмы крови человека».

ИСПЫТАНИЯ

Описание. Прозрачный или слегка опалесцирующий, бесцветный или светло-желтый раствор.

Подлинность.

Видоспецифичность

Видоспецифичность подтверждается наличием линии преципитации только с сывороткой против белков сыворотки крови человека. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Иммуноэлектрофорезом в агаровом геле». Допустимо проведение испытания методом иммунодиффузии в геле в соответствии с ОФС «Иммунодиффузия в геле».

Наличие специфической активности

Определение антител к SARS-CoV-2 проводят методом ИФА с использованием зарегистрированных наборов реагентов для определения иммуноглобулинов класса G к антигену SARS-CoV-2 (см. раздел специфическая активность).

Прозрачность. Оптическая плотность не более 0,05. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Прозрачность и степень мутности» спектрофотометрическим методом в кюветах с толщиной слоя 3 мм при длине волны 540 нм относительно воды.

Цветность. Оптическая плотность не более 0,05. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Степень окраски жидкостей»

спектрофотометрическим методом в кюветах с толщиной слоя 3 мм при длине волны 440 нм относительно воды.

pH. От 4,5 до 5,5. Испытуемый образец разводят до 1 % концентрации раствором натрия хлорида 0,9 %. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с требованиями ОФС «Ионометрия».

Механические включения. *Видимые механические включения:* должны соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

Извлекаемый объем. Не менее номинального. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения».

Термостабильность. Препарат должен оставаться жидким и не образовывать геля после выдерживания в водяной бане или водяном термостате при температуре $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 4 ч.

Электрофоретическая однородность. Основная фракция иммуноглобулинов IgG должна составлять не менее 95 % от общего белка. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Определение однородности лекарственных препаратов из сыворотки крови человека и животных методом электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы»

Молекулярные параметры. Содержание мономеров и димеров иммуноглобулина G должно быть не менее 90 %, полимеров и агрегатов – не более 3 %. Определение проводят методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии в соответствии с требованиями ОФС «Определение молекулярных параметров иммуноглобулинов методом ВЭЖХ».

Подвижная фаза (ПФ). Фосфатный буферный раствор с pH 7,0.

Испытуемый раствор. Препарат разводят фосфатным буферным раствором до концентрации белка 2 мг/мл.

Раствор стандартного образца. Иммуноглобулин человеческий BRP или соответствующий стандартный образец иммуноглобулина человека

нормального, аттестованный относительно иммуноглобулина человеческого BRP. К 0,1 мл СО иммуноглобулина добавляют 4,9 мл фосфатного буферного раствора, перемешивают.

Хроматографические условия

Колонка	300 × 7,8 мм, силикагель гидрофильный модифицированный для разделения иммуноглобулинов, средних и крупных белков, 5 мкм;
Температура колонки	25 °С;
Температура образца	15-25 °С
Скорость потока	0,6 мл/мин;
Детектор	спектрофотометрический, 280 нм;
Объем пробы	20 мкл;
Время хроматографирования	30 мин.

В хроматограф вводят отдельно по 20 мкл испытуемого раствора и раствора стандартного образца.

Ориентировочное время удерживания пика мономера соответствует времени удерживания пика мономера на хроматограмме раствора сравнения.

Сумма площадей пиков мономера и димера должна быть не менее 90,0 % от суммы площадей всех пиков на хроматограмме,

- полимеров и агрегатов - не более 3,0 %;

- не учитывают пики, площади которых составляют 0,05 % и менее от площади пика мономера на хроматограмме испытуемого раствора.

Пригодность хроматографической системы:

- *относительное стандартное отклонение* площадей всех пиков на хроматограмме, полимеров и агрегатов должно быть не более 3,0 %.

- *эффективность хроматографической колонки*, рассчитанная по пику мономера должна быть не менее 1500 теоретических тарелок;

- *разрешение (R_s)* между пиками мономера и димера должно быть не менее 1.

Расчет содержания молекулярных параметров в процентах проводят методом внутренней нормализации, используя программное обеспечение хроматографа.

Осмолярность. Не менее 240 мОсм/кг. Определение проводят криоскопическим методом в соответствии с требованиями ОФС «Осмолярность».

Белок. От 8,0 до 12,0 % (от 80 до 120 мг/мл). Определение проводят колориметрическим методом с биуретовым реактивом в соответствии с ОФС «Количественное определение белка колориметрическим методом с биуретовым реактивом в препаратах крови человека и животных» (метод А).

Фракционный состав. На электрофореграмме испытуемого препарата должна выявляться интенсивная линия преципитации IgG и не более четырех дополнительных линий. Испытуемый образец разводят до 1 % концентрации 0,9 % раствором натрия хлорида. Определение проводят методом иммуноэлектрофореза в геле с использованием сыворотки против белков сыворотки крови человека в соответствии с ОФС «Имуноэлектрофорез в агаровом геле».

Содержание иммуноглобулина А. Не более 1,0 мг/мл. Определение проводят методом радиальной иммунодиффузии в геле (РИД) по Манчини в соответствии с ОФС «Количественное определение содержания иммуноглобулинов классов G, М и А в препаратах иммуноглобулина человека».

Аномальная токсичность. Препарат должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Двум морским свинкам массой 250-300 г вводят внутрибрюшинно по 5,0 мл препарата, пяти здоровым белым мышам массой 18-20 г по 0,5 мл препарата внутривенно. Период наблюдения за животными составляет 7 сут.

Пирогенность. Препарат должен быть апирогенным. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Пирогенность».

Препарат вводят в дозе 500 мг/кг массы тела кролика в объеме не более 10 мл на 1 кг массы тела животного.

Стерильность. Препарат должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность».

Вирусная безопасность.

Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg). Препарат не должен содержать поверхностного антигена вируса гепатита В. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения России и имеющих чувствительность не ниже 0,1 МЕ/мл в соответствии с инструкциями по применению.

Антитела к вирусу гепатита С. Антитела к вирусу гепатита С должны отсутствовать. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения России и имеющих 100 % чувствительность и специфичность в соответствии с инструкциями по применению.

Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1. Препарат не должен содержать антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1. Определение проводят иммуноферментным методом с использованием тест-систем, разрешенных к применению в практике здравоохранения России и имеющих 100 % чувствительность и специфичность в соответствии с инструкциями по применению.

Специфическая безопасность.

Антикомплементарная активность. 1 мг белка иммуноглобулина должен связывать не более 1 ед. (СН50/мг белка) комплемента. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение антикомплементарной активности в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека для внутривенного введения».

Анти-А и анти-В гемагглютинины. Агглютинация должна отсутствовать в разведении препарата 1:64. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Определение анти-А и анти-В гемагглютининов в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека»

Анти-Д антитела. Содержание анти-Д антител в препарате должно быть не более, чем в положительном стандартном образце. Испытания проводят

в соответствии с ОФС «Испытание на анти-D антитела в лекарственных препаратах иммуноглобулинов человека».

Специфическая активность. Содержание антител IgG к вирусу SARS-CoV-2 должно быть не менее 160 АКЕ/мл. Антиковидная единица (АКЕ) – единица активности препарата иммуноглобулина человека против COVID-19. За 1 единицу АКЕ иммуноглобулина принимается величина, обратная его разведению, обладающему способностью ингибировать появление на монослое культуры клеток Vero цитопатогенного действия (ЦПД) SARS-CoV-2 в 2 из 3 лунок в реакции нейтрализации против 2,0 ($\pm 0,3$) lg ТЦД50 (БОЕ) SARS-CoV-2.

Определение проводят методом непрямого варианта твердофазного ИФА по отношению к соответствующему стандартному образцу (СОП) в соответствии с инструкциями по применению зарегистрированных в Российской Федерации тест-систем для выявления IgG к SARS-CoV-2, для которых экспериментально установлена корреляция между результатами определения содержания антител в плазме с вируснейтрализующей активностью, определенной в тесте с использованием перmissive культуры клеток.

Количественное определение

Стабилизаторы:

Глицин. Определение проводят методом формольного титрования с потенциометрическим определением конечной точки.

Метод формольного титрования (метод Серенсена).

К точной навеске или точному объему испытуемого образца прибавляют воду до объема 20 мл. При необходимости раствор нейтрализуют потенциометрически до pH 7,0, путем прибавления натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М. По окончании нейтрализации прибавляют от 2 до 10 мл формальдегида раствора 35 %, нейтрализованного в день анализа натрия гидроксида раствором 10 % до pH 7,0, перемешивают и титруют натрия гидроксида раствором 0,1.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М соответствует 1,4 мг аминного азота.

Испытуемый раствор. Препарат разводят в 4 раза (3 мл препарата помещают в пробирку, прибавляют 9 мл воды и перемешивают). Затем 8 мл полученного раствора переносят в химический стакан вместимостью 50 мл, добавляют 7 мл воды, 5 мл трихлоруксусной кислоты раствора 20 % (все операции проводят стеклянной пипеткой). Полученный раствор тщательно перемешивают стеклянной палочкой и фильтруют через бумажный фильтр (синяя лента).

Проведение анализа.

Отбирают 10 мл фильтрата стеклянной пипеткой и помещают в химический стакан вместимостью 50 мл, прибавляют 7 мл воды, перемешивают на магнитной мешалке. Измеряют рН полученного раствора, и, при необходимости, доводят рН раствора до 7,0 добавлением при постоянном перемешивании натрия гидроксида раствора 1 М (около 2,5 мл) и корректируют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты.

Не вынимая электродов из испытуемого раствора и не выключая магнитную мешалку, добавляют 10 мл формалина (рН 7,0) и титруют из бюретки при постоянном перемешивании 0,1 М раствором натрия гидроксида до установления рН 7,6. Вблизи точки эквивалентности титрованный раствор прибавляют по 0,05 мл и после каждого прибавления измеряют рН.

Содержание глицина (X) в мг/мл в препарате вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,1 \times V \times K_n \times 75 \times 20 \times 4}{10 \times 8},$$

где

0,1 – молярность раствора натрия гидроксида;

V – объем 0,1 М раствора натрия гидроксида, израсходованного на титрование, мл;

K_n – поправочный коэффициент к молярности 0,1 М раствора натрия гидроксида;

75 – молярная масса глицина, г/моль;

20 – общий объем смеси (8 мл раствора иммуноглобулина, 7 мл воды и 5 мл кислоты трихлоруксусной 20 %), мл;

10 – объем фильтрата, мл;

8 – объем раствора иммуноглобулина, взятого на осаждение, мл;

4 – разведение препарата.

За результат принимают среднее значение двух определений.

Три-н-бутилфосфат (ТБФ). Не более 1 мкг/мл. Определение проводят методом газовой хроматографии в соответствии с требованиями ОФС «Газовая хроматография» на стадии производственного контроля.

Полисорбат-80. Не более 5 мкг/мл. Определение проводят методом газовой хроматографии в соответствии с требованиями ОФС «Газовая хроматография» на стадии производственного контроля.

Хранение. При температуре от 2 до 8 °С в соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственных средств». Замораживание не допускается.