

Изучение возможности увеличения срока годности стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности

О. Г. Корнилова, М. А. Кривых, Е. А. Хуснатдинова, Е. С. Коновалова, Р. А. Волкова,
О. В. Фадейкина, Э. Ю. Кудашева, А. А. Мовсесянц

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

Поступила 05.04.2017 г. Принята к публикации 14.04.2017 г.

Представлены материалы по изучению стабильности двух серий стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности (ОСО 42-28-430). Показана стабильность характеристик первой серии стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности в течение 30 месяцев хранения при температуре $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$, что позволяет увеличить срок использования стандартного образца с 18 месяцев (первоначальный срок наблюдения) до 30 месяцев хранения с момента первичного установления аттестуемой характеристики при допустимом диапазоне значений для положительного контроля — более 50 %, для отрицательного контроля — менее 50 %. На основании полученных результатов после 18 месяцев использования второй серии стандартного образца проведена его повторная аттестация. Установлен диапазон значений основной аттестованной характеристики: антикомплементарная активность отрицательного контроля составила $41,6 \pm 7,2$ %, положительного контроля — $75,7 \pm 6,8$ % при доверительной вероятности 0,95. Срок использования второй серии стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности (ОСО 42-28-430) продлен до 02.2018 г., что составляет 30 месяцев.

Ключевые слова: стандартный образец; препараты иммуноглобулинов человека; антикомплементарная активность; срок использования.

Библиографическое описание: Корнилова ОГ, Кривых МА, Хуснатдинова ЕА, Коновалова ЕС, Волкова РА, Фадейкина ОВ, Кудашева ЭЮ, Мовсесянц АА. Изучение возможности увеличения срока годности стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(2): 110–115.

Жесткие требования безопасности иммуноглобулинотерапии обуславливают необходимость особого контроля препаратов иммуноглобулинов человека. Описание профиля их безопасности является неотъемлемой частью процесса управления рисками [1]. Современная практика экспертизы качества предъявляет все более четкие требования к методам и методикам, используемым при оценке качества лекарственных средств. Немаловажная роль в совершенствовании процедур испытаний, наряду с использованием современного оборудования и реактивов, отводится внедрению стандартных образцов (СО) качества лекарственных средств [2].

В 2015 г. впервые в Российской Федерации разработан отечественный СО для определения антикомплементарной активности (АКА), представляющий собой комплект, состоящий из отрицательного и положительного контролей, используемый для оценки стабильности и приемлемости результатов испытаний [3, 4]. Разработка, аттестация и применение фармакопейных СО в системе стандартизации лекарственных средств и последующем подтверждении их качества является надежным гарантом соответствия отечественных препаратов требованиям международных стандартов [3, 5, 6]. До настоящего времени аттестовано две серии СО иммуноглобулина человека для определения АКА с установленным сроком годности 18 месяцев (срок наблюдения). Международный опыт разработки и применения СО, применяемых для контроля качества биологических лекарственных препаратов, свиде-

тельствует о стабильности их свойств на протяжении длительного времени [7, 8]. Так, СО иммуноглобулина человека для определения АКА, утвержденный Европейским директором по качеству лекарственных средств и здравоохранения (EDQM), не имеет ограниченного срока годности при соблюдении температурного режима хранения [9]. Следует отметить, что этот СО имеет широкий диапазон аттестованных значений антикомплементарной активности: для положительного контроля — от 60 до 100 %, для отрицательного — от 10 до 40 %, что нивелирует изменения активности при хранении и снижает значимость такого СО для подтверждения правильности выполнения методики.

Цель настоящего исследования — изучение стабильности стандартного образца иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности в реальном времени и оценка возможности увеличения его срока годности.

Материалы и методы

Материалы

В работе использовали:

- гемолитические сыворотки производства ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- пулированный (in house) комплемент морских свинок [4];

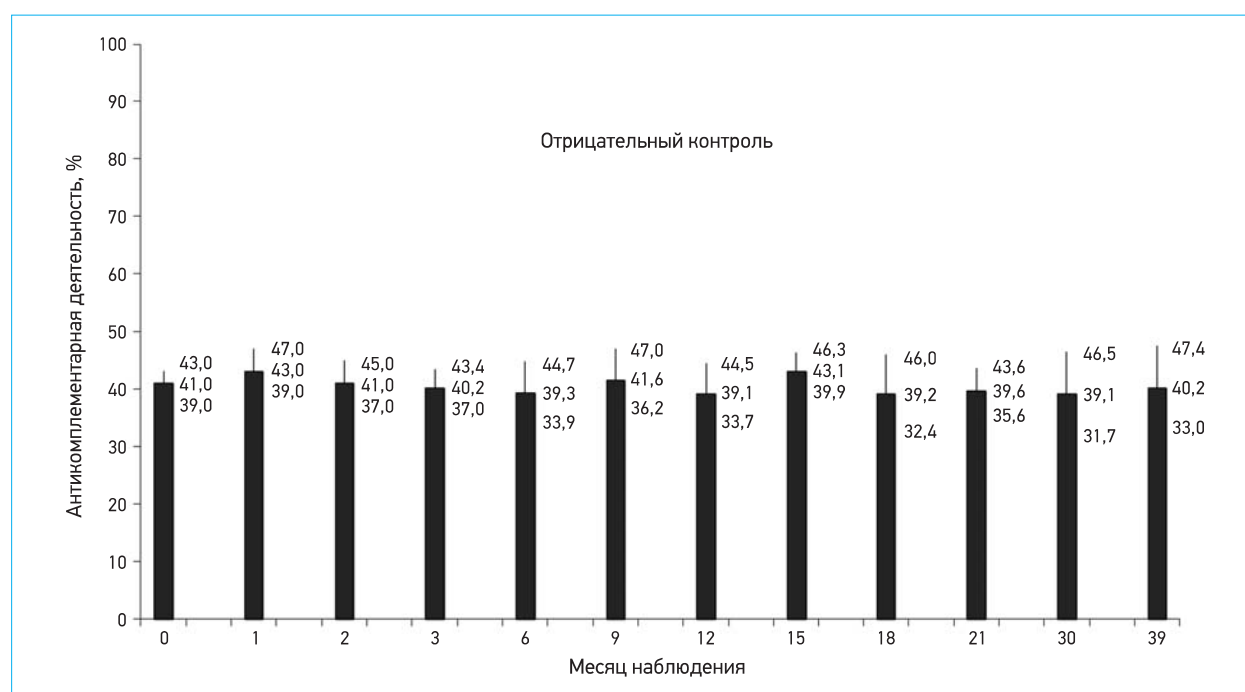


Рис. 1. Изучение стабильности антикомплементарных свойств отрицательного контроля стандартного образца иммуноглобулина человека, серия 1.

- кровь баранью дефибринированную с цитратом натрия, производства ЗАО «ЭКОлаб», Россия;
- отраслевой стандартный образец иммуноглобулина человека ОСО 42-28-430–2015 (серия 1) с аттестованным значением антикомплементарной активности: отрицательного контроля — $41,5 \pm 3,6$ %; положительного контроля — $78,2 \pm 4,6$ % с доверительной вероятностью 0,95;
- отраслевой стандартный образец иммуноглобулина человека ОСО 42-28-430–2016 (серия 2) с аттестованным значением антикомплементарной активности: отрицательного контроля — $40,5 \pm 7,2$ %; положительного контроля — $76,6 \pm 6,2$ % с доверительной вероятностью 0,95;
- отраслевой стандартный образец содержания белка в иммуноглобулине ОСО 42-28-340 с аттестованным значением содержания белка $10,0 \pm 0,27$ % с доверительной вероятностью 0,95;
- стандартный образец иммуноглобулина человека (АКА и молекулярные параметры) BRP, серия 1 (кат.

№ Y0001504), утвержден Европейским директором по качеству лекарственных средств и здравоохранения, Франция, 2011 г. [9].

Методы

Антикомплементарную активность определяли в реакции связывания комплемента [4]; содержание белка — колориметрическим методом с биуретовым реактивом [10]. Расчет статистических параметров (среднего значения, стандартного отклонения, доверительного интервала) с доверительной вероятностью 0,95 выполняли по Гланцу [11], используя программное обеспечение MS Excel 2007.

Результаты и обсуждения

Стабильность основной аттестованной (АКА) и дополнительной (содержание белка) характеристик СО иммуноглобулина человека, серия 1 изучали методом естествен-

Таблица 1. Изучение стабильности стандартного образца для определения антикомплементарной активности, серия 1

Наименование аттестуемой характеристики, единица измерения	Срок хранения, мес.											
	0 (n = 3)	1 (n = 9)	2 (n = 12)	3 (n = 12)	6 (n = 12)	9 (n = 3)	12 (n = 3)	15 (n = 5)	18 (n = 6)	21 (n = 5)	30 (n = 3)	39 (n = 2)
АКА положительного контроля СО, процент, $\bar{x} \pm 2S_x$	79,0 $\pm$ 0,6	76,0 $\pm$ 4,0	80,0 $\pm$ 2,0	78,2 $\pm$ 3,6	78,9 $\pm$ 6,8	78,6 $\pm$ 2,2	80,0 $\pm$ 2,8	79,4 $\pm$ 4,2	76,9 $\pm$ 4,4	71,9 $\pm$ 6,0	67,3 $\pm$ 5,6	69,2 $\pm$ 5,8
АКА отрицательного контроля СО, процент, $\bar{x} \pm 2S_x$ (n = 3)	41,0 $\pm$ 2,0	43,0 $\pm$ 4,0	41,0 $\pm$ 4,0	40,2 $\pm$ 3,2	39,3 $\pm$ 5,4	41,6 $\pm$ 5,4	39,1 $\pm$ 5,4	43,1 $\pm$ 3,2	39,2 $\pm$ 6,8	39,6 $\pm$ 4,0	39,1 $\pm$ 7,4	40,2 $\pm$ 7,2
Содержание белка*, мг/мл, $\bar{x} \pm S_x$ (n = 3)	101,0 $\pm$ 1,0	101,0 $\pm$ 0,7	102,0 $\pm$ 1,3	103,0 $\pm$ 0,5	103,0 $\pm$ 0,6	102,0 $\pm$ 0,8	100,0 $\pm$ 0,9	102,0 $\pm$ 0,8	101,0 $\pm$ 0,4	102,0 $\pm$ 2,0	101,0 $\pm$ 0,84	102,0 $\pm$ 0,3
Описание	Прозрачная бесцветная жидкость											

* Среднее значение ($\bar{x} \pm S_x$) содержания белка в положительном и отрицательном контролях.

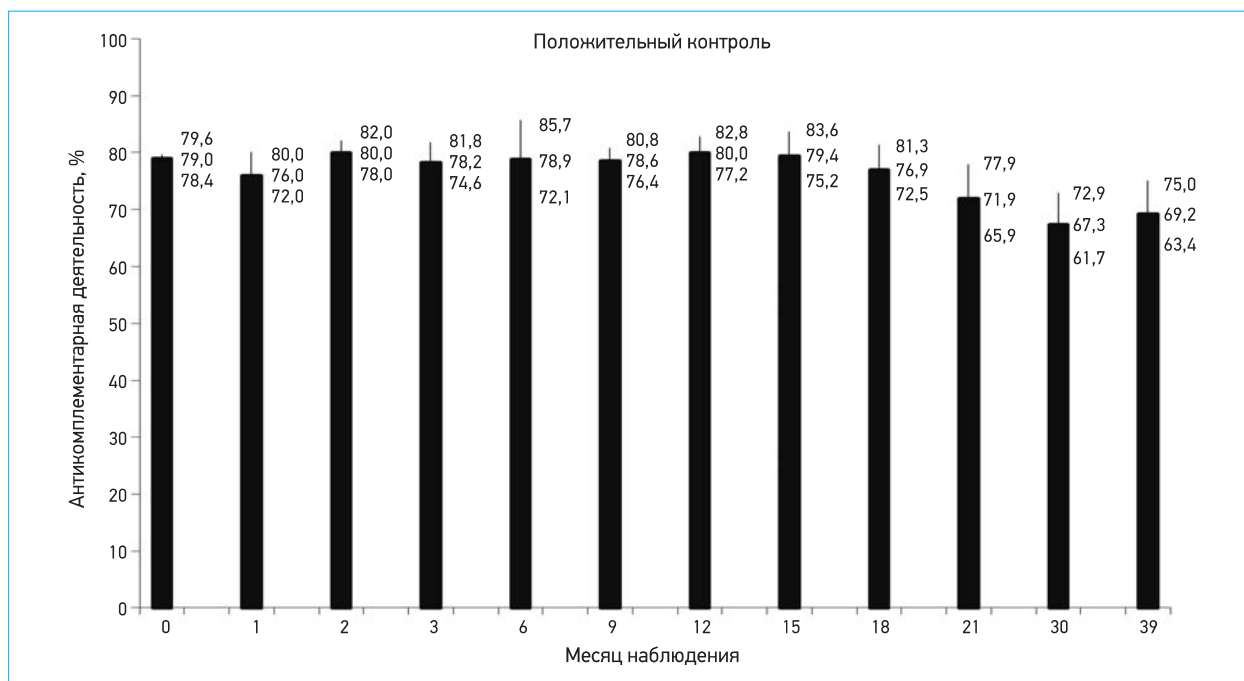


Рис. 2. Изучение стабильности антикомплементарных свойств положительного контроля стандартного образца иммуноглобулина человека, серия 1.

ного старения при температуре хранения (5 ± 3) °C (табл. 1). Антикомплементарная активность положительного и отрицательного контролей соответствовала аттестованному диапазону в течение 18 месяцев хранения (срок наблюдения). Дальнейшее наблюдение показало постепенное снижение среднего значения АКА положительного контроля на 4,7 %, 9,3 % и 7,4 % при хранении в течение 21, 30 и 39 месяцев соответственно. Изменение среднего значения АКА отрицательного контроля было менее выраженным и составило не более 1,4 % (рис. 1, 2). Изменения аттестованной характеристики при хранении не превышали 10 %, полученные результаты удовлетворяли требованиям, предъявляемым к положительному и отрицательному контролям СО: положительный контроль имеет значение антикомплементарной активности в диапазоне более 50 %, а отрицательный — менее 50 % [3]. Для увеличения срока использования СО по истечении 18 месяцев его хранения с момента первичного установления аттестуемой характеристики были проведены повторные исследования второй серии.

Значения дополнительной характеристики (содержание белка) оставались стабильными на протяжении 39 месяцев (табл. 1). Полученные средние значения антикомплементарной активности СО иммуноглобулина человека, серия 2, находились в аттестованном диапазоне (табл. 2). Для положительного контроля средние значения составили от 70,4 до 80,8 % при аттестованном значении $76,6\pm 6,2$ %, для отрицательного контроля — от 41,2 до 46,4 % при аттестованном значении $40,5\pm 7,2$ %. При этом наблюдалось изменение общего среднего значения антикомплементарной активности, что, видимо, связано с привлечением новых исполнителей (исполнители 3 и 4) к проведению испытаний. Поскольку изменения общего среднего значения не превысили 1,1 %, полученные результаты позволили продлить срок использования СО

на 12 месяцев, но с корректировкой диапазонов значений аттестованной характеристики: отрицательный контроль — $41,6\pm 7,2$ %, положительный контроль — $75,7\pm 6,8$ % с доверительной вероятностью 0,95.

Установленный более узкий диапазон значений аттестованной характеристики по сравнению с допустимым диапазоном СО иммуноглобулина человека для определения АКА, утвержденного EDQM, представляет более строгий инструмент для оценки стабильности проведения испытаний, что способствует стандартизации методики и, соответственно, получению сопоставимых результатов в различных лабораториях.

Выводы

1. Изучена стабильность характеристик СО иммуноглобулина человека для определения антикомплементарной активности (серия 1) в течение 39 месяцев хранения при температуре (5 ± 3) °C.

2. Обоснована возможность увеличения срока использования СО с 18 до 30 месяцев хранения с момента первичного установления аттестуемой характеристики с корректировкой диапазона значений аттестованной характеристики.

3. Установлены значения аттестованной характеристики СО 42-28-430, серия 2: АКА отрицательного контроля составляет $41,6\pm 7,2$ %, положительного контроля — $75,7\pm 6,8$ % с доверительной вероятностью 0,95.

Литература

1. Казаков АС, Затолочина КЗ, Романов БК, Букатина ТМ, Вельц НЮ. Система управления рисками — важная часть Правил надлежащей практики фармаконадзора (GVP). Безопасность и риск фармакотерапии 2016; (1): 21–7.
2. Миронов АН, Сакаева ИВ, Саканян ЕИ, Буянтян НД, Ковалева ЕЛ, Миткина ЛИ и др. Стандартные образцы в практи-

Таблица 2. Изучение антикомплемментарной активности стандартного образца иммуноглобулина человека, серия 2

Исполнитель	Антикомплемментарная активность СО иммуноглобулина человека BRP, процент		Антикомплемментарная активность СО иммуноглобулина человека (серия 2), процент			
	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Отрицательный контроль		Положительный контроль	
			Х	($\pm S_x$)	Х	($\pm S_x$)
Исполнитель 1	15,7	64,9	40,6	41,0 $\pm$ 4,4	81,0	77,9 $\pm$ 3,5
	25,5	73,4	45,4		81,7	
	19,8	69,8	41,1		86,2	
			39,8		80,4	
	29,6	89,9	47,1		76,9	
			46,9		78,3	
	24,3	89,6	44,2		74,3	
			41,9		74,8	
			38,4		75,6	
	21,4	85,5	39,4		75,7	
			41,2		74,3	
			34,4		77,5	
			32,5		76,1	
Исполнитель 2	20,3	65,5	36,9	40,0 $\pm$ 2,9	77,5	75,6 $\pm$ 2,3
	18,1	67,4	40,8		77,2	
			43,6		73,7	
	17,4	65,2	35,6		77,2	
			37,0		73,7	
	27,3	88,7	43,6		74,3	
			46,1		76,4	
			40,1		78,8	
	24,2	86,6	39,2		74,1	
			40,9		71,3	
			40,9		72,7	
	18,3	87,2	38,3		74,9	
			40,5		74,6	
			39,5		78,0	
			37,4		79,0	
Исполнитель 3	13,8	82,5	45,0	43,8 $\pm$ 2,0	74,8	73,3 $\pm$ 2,3
	17,0	78,3	45,0		74,6	
	17,0	78,3	42,4		70,6	
			42,7		73,1	
	17,3	78,7	41,2		70,4	
			46,6		76,0	
Исполнитель 4	17,3	78,7	46,3	44,6 $\pm$ 1,8	71,1	73,6 $\pm$ 3,7
	17,8	80,5	43,6		80,8	
			46,4		71,2	
	21,6	79,8	45,5		73,5	
			42,0		73,9	
	13,7	77,3	43,8		71,3	

- не зарубежного и отечественного фармацевтического анализа. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2012; (3): 56–60.
3. Кривых МА, Корнилова ОГ, Бунятян НД, Кудашева ЭЮ, Рунова ОБ, Малкова ВИ, Устинникова ОБ. Разработка стандартного образца для определения антикомплемментарной активности препаратов иммуноглобулинов человека. *Химико-фармацевтический журнал* 2015; 49(6): 40–2.
 4. ОФС. 1.8.2.0007.15. Определение антикомплемментарной активности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2. М.; 2015. С. 937–49. Available from: <http://femb.ru/feml>.
 5. Меркулов ВА, Саканян ЕИ, Волкова РА, Климов ВИ, Шемерякина ТБ, Яшкир ВА. Фармакопейные стандартные образцы и практика их применения в отечественной системе стандартизации лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал* 2016; 50(4): 40–3.
 6. Волкова РА, Фадейкина ОВ, Климов ВИ, Саканян ЕИ, Олефир ЮВ, Меркулов ВА и др. Актуальные вопросы стандартных образцов в сфере обращения биологических лекарственных средств. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2016; 16(4): 229–36.
 7. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Available from: <https://www.edqm.eu>.
 8. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Available from: <https://goo.gl/6kDVFZ>.
 9. Sandberg E, Costanzo A, Daas A, Buchheit KH. Calibration of the human immunoglobulin BRPs for ACA and molecular size (batch 1) and for Fc function and molecular size (batches 1 & 2). *Pharmeur Bio Sci Notes*. 2012; 1–15.
 10. ОФС. 1.2.3.0012.15. Определение белка. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. С. 757–72. Available from: <http://femb.ru/feml>.
 11. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1999.

Об авторах

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

Корнилова Ольга Геннадьевна. Главный эксперт лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Кривых Максим Андреевич. Ведущий эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП.

Хуснатдинова Екатерина Александровна. Эксперт 1 категории лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Коновалова Екатерина Сергеевна. Инженер-лаборант лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Волкова Рауза Асхатовна. Начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП, д-р. биол. наук.

Фадейкина Ольга Васильевна. Главный технолог Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Кудашева Эльвира Юрьевна. Начальник лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Мовсесянц Арташес Авакович. Начальник Испытательного центра экспертизы качества МИБП, д-р. мед. наук, профессор.

Адрес для переписки: Корнилова Ольга Геннадьевна, Kornilova@expmed.ru

Contemplation of the possibility of extending the shelf life of human immunoglobulin reference standard used for determination of anticomplementary activity

O. G. Kornilova, M. A. Krivikh, E. A. Husnatdinova, E. S. Konvalova, R. A. Volkova,
O. V. Fadeykina, E. Yu. Kudasheva, A. A. Movsesyants

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

The article gives an account of the stability study performed for two batches of human immunoglobulin reference standard (RS) used for determination of anticomplementary activity (industry reference standard, IRS 42-28-430). The first batch of human immunoglobulin reference standard used for determination of anticomplementary activity showed sustainable results during 30 months of storage at $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ which makes it possible to extend the RS shelf life from 18 months (corresponding to the initial monitoring period) to 30 months from the date of determining the certified parameter, given the acceptable range of more than 50 % for the positive control and less than 50 % for the negative control. Based on the results obtained, the re-certification was performed for the second RS batch after 18 months of storage. The main certified parameter (anticomplementary activity) of the negative control was within the range of $41.6 \pm 7.2\%$, and of the positive control $75.7 \pm 6.8\%$ for the confidence level of 0.95. Therefore, the shelf life of the second batch of the human immunoglobulin reference standard used for determination of anticomplementary activity (IRS 42-28-430) was extended until February 2018, which makes 30 months.

Key words: reference standard; human immunoglobulin products; anticomplementary activity; shelf life.

For citation: Kornilova OG, Krivikh MA, Husnatdinova EA, Konvalova ES, Volkova RA, Fadeykina OV, Kudasheva EYu, Movsesyants AA. Contemplation of the possibility of extending the shelf life of human immunoglobulin reference standard used for determination of anticomplementary activity. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(2): 110–115.

References

1. Kazakov AS, Zatolochina KE, Romanov BK, Bukatina TM, Velts NYu. The risk management system is the important part of good pharmacovigilance practices (GVP). *Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2016; (1): 21–7 (in Russian).
2. Mironov AN, Sakaeva IV, Sakanyan EI, Bunyatyan ND, Kovaleva EL, Mit'kina LI, et al. Reference standards in international and domestic pharmaceutical analysis. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2012; (3): 56–60 (in Russian).
3. Krivykh MA, Kornilova OG, Bunyatyan ND, Kudasheva EYu, Runova OB, Malkova VI, Ustinnikova OB. Development of a reference standard for the determination of human immunoglobulin anti-complementary activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2015; 49(6): 40–2 (in Russian).
4. ОФЦ. 1.8.2.0007.15. Determination of the anticomplementary activity of human immunoglobulin-containing medicinal products for intravenous administration. *The State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. 13th edition. V. 2. Moscow; 2015. P. 937–49. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
5. Merkulov VA, Sakanyan EI, Volkova RA, Klimov VI, Shemeryankina TB, Yashkir VA. *Pharmacopoeia standard samples and their practical application in the national drug standardization system*. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 2016; 50(4): 40–3 (in Russian).
6. Volkova RA, Fadeikina OV, Klimov VI, Sakanyan EI, Olefir YuV, Merkulov VA, et al. Topical issues related to reference standards in the sphere of circulation of biological products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16(4): 229–36 (in Russian).
7. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). Available from: <https://www.edqm.eu>.
8. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Available from: <https://goo.gl/6kDVFZ>.
9. Sandberg E, Costanzo A, Daas A, Buchheit KH. Calibration of the human immunoglobulin BRPs for ACA and molecular size (batch 1) and for Fc function and molecular size (batches 1 & 2). *Pharmeur Bio Sci Notes*. 2012; 1–15.
10. ОФЦ. 1.2.3.0012.15. Determination of protein. *The State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. 13th edition. V. 1. Moscow; 2015. P. 757–72. Available from: <http://femb.ru/feml> (in Russian).
11. Glantz SA. *Primer of biostatistics*. Moscow: Praktika; 1999 (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.

Kornilova OG. Chief expert of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.

Krivykh MA. Leading expert of the Division for Expert Evaluation of Allergenes, Cytokines and Other Immunomodulators of the Center for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products.

Husnatdinova EA. Expert of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

Konovalova ES. Engineering technician of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality.

Volkova RA. Head of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Test Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Doctor of Biological Sciences.

Fadeykina OV. Chief technologist of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Kudasheva EYu. Head of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.

Movsesyants AA. Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Doctor of Medical Sciences, Professor.

Contact e-mail: Kornilova Olga Gennadyevna; Kornilova@expmed.ru