

Разработка подходов к проведению испытания гетерологичных сывороточных препаратов по показателю «Стерильность» методом мембранной фильтрации

С. М. Суханова, З. Е. Бердникова

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 06.03.2017 г. Принята к публикации 14.04.2017 г.

Достоверная оценка качества препаратов крови по показателю «Стерильность» в аспекте микробиологической безопасности занимает особое положение и относится к наиболее сложному и ответственному контролю. Метод мембранной фильтрации с использованием замкнутой системы многие годы является основным и предпочтительным для испытания стерильности фактически всех известных лекарственных средств. Однако испытание стерильности отечественных гетерологичных сывороточных препаратов производители осуществляют только методом прямого посева. Проведенное исследование, выполненное с целью определения возможности использования метода мембранной фильтрации при испытании гетерологичных сывороточных препаратов по показателю «Стерильность», позволило модифицировать пробоподготовку предварительным разведением образцов в среднем в 1,5–2 раза стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида с последующей фильтрацией с увеличенной скоростью, что обеспечивает снижение сорбции белков мембранным фильтром. Определен диапазон белковой нагрузки на мембрану при испытании сывороточных препаратов в соответствии с требованиями ГФ XIII. Показана возможность использования различных типов фильтроэлементов из смешанных эфиров целлюлозы и Durapore® (PVDF) для проведения испытания методом мембранной фильтрации сывороточных препаратов с белковой нагрузкой до 12 г белка на мембрану. Подтверждена сопоставимость результатов испытаний стерильности гетерологичных сывороточных препаратов методом прямого посева и мембранной фильтрации. Адаптированная к белоксодержащим препаратам методика позволяет использовать для проведения испытания по показателю «Стерильность» более надежный и современный метод мембранной фильтрации и может быть рекомендована для включения в нормативные документы на соответствующие препараты наряду с используемым в настоящее время методом прямого посева.

Ключевые слова: микробиологическая безопасность; лекарственные средства; гетерологичные сывороточные препараты; стерильность; мембранная фильтрация; оценка качества.

Библиографическое описание: Суханова СМ, Бердникова ЗЕ. Разработка подходов к проведению испытания гетерологичных сывороточных препаратов по показателю «Стерильность» методом мембранной фильтрации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(2): 103–109.

В современной системе оценки качества лекарственных препаратов крови человека и гетерологичных сывороточных препаратов показатели биологической безопасности, в том числе испытание на стерильность занимают особое место и относятся к наиболее сложному и ответственному контролю. Это обусловлено как особенностью их производства (использованием в качестве сырья биологического материала, стерилизацией конечного продукта фильтрованием), так и свойствами самих препаратов, содержащими белковые компоненты и являющимися благоприятной средой для роста и размножения микроорганизмов-контаминантов. Важнейшим условием обеспечения микробиологической безопасности лекарственных средств (ЛС) является использование при оценке качества точных, высокочувствительных методов, позволяющих получать достоверные, воспроизводимые результаты по выявлению микроорганизмов в исследуемых образцах. При оценке микробиологической безопасности применения ЛС и экспертизе отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственного препарата одним из наиболее значимых показателей оценки качества препаратов крови является достоверность результатов испытания на стерильность. В соответствии с требованиями ведущих фармакопей мира испытание на стерильность

ЛС может быть проведено методом прямого посева или методом мембранной фильтрации [1–6]. Использование каждого из указанных методов имеет свои преимущества и недостатки.

Метод прямого посева является более простым, экономичным, с небольшим количеством операций при посеве, при этом объем образца для испытания ограничен, возникает необходимость решения вопроса о наличии и способах устранения антимикробного действия препарата, подавляющего рост контаминантов, а также пересева препаратов, вызывающих помутнение питательной среды, что, в том числе, повышает риск получения ложноположительных результатов (до 15 %). Метод мембранной фильтрации лишен этих недостатков, однако не позволяет испытывать некоторые вещества (так называемые нефилтруемые образцы), закупоривающие мембрану. Выпускаемые для мембранной фильтрации фильтры из эфира нитрата целлюлозы в основном предназначены для водных, масляных и слабых спиртовых растворов, фильтры из эфира ацетата целлюлозы — для концентрированных спиртовых растворов и кислот, а фильтры Durapore® (PVDF) — для антибиотиков. Известно, что препараты крови, в том числе сыворотки, относятся к трудно фильтруемым препаратам [7, 8]. Гетерологичные сыворотки пред-

ставляют собой иммуноглобулиновую фракцию сывороток крови животных и являются сложными белоксодержащими препаратами (8–14 %) [7, 9–14]. Высокая молекулярная масса белков обуславливает их неспособность проходить через полупроницаемые искусственные мембраны (целлофан, пергамент, коллодий), а также биомембраны растительных и животных тканей. Характерными свойствами растворов таких белков являются: низкое осмотическое давление, высокая вязкость, гидрофобность (растворимы в разбавленных растворах нейтральных солей, кислот и щелочей), способность к набуханию в очень больших пределах, а также незначительная способность к диффузии [7]. Наличие этих свойств у сывороточных препаратов, безусловно, может затруднить процесс их фильтрации и отмывки мембраны и быть препятствием для проведения испытания методом мембранной фильтрации. Очевидно, по этим причинам производители не рекомендуют конкретные фильтроэлементы для таких белковых препаратов.

ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность» ГФ XIII, а также фармакопеями других стран рекомендовано использовать метод мембранной фильтрации во всех случаях, когда состав препарата, его физико-химические свойства и природа позволяют фильтровать его через мембранные фильтры, а метод прямого посева — для препаратов, испытание которых невозможно выполнить методом мембранной фильтрации [1–6]. Метод мембранной фильтрации многие десятилетия используется при испытании различных препаратов ведущими фармацевтическими предприятиями и контрольными лабораториями во многих странах.

Использование данного метода, наряду с методом прямого посева, предусмотрено фармакопейными статьями ГФ XIII, в том числе, и для гетерологичных сывороток [9–14, 15], однако до настоящего времени согласно действующим нормативным документам (НД) испытание всех зарегистрированных отечественных гетерологичных сывороточных препаратов проводят только методом прямого посева [16–23]. Методика испытания стерильности белковых препаратов с детальным описанием процедуры отсутствует.

Более того, приказом Минздрава России от 28 октября 2015 г. № 770 установлено, что нормативная документация на зарегистрированные лекарственные препараты для медицинского применения, а также на лекарственные препараты для медицинского применения, заявления о государственной регистрации которых представлены в Министерство здравоохранения Российской Федерации до введения в действие общих фармакопейных статей, утвержденных настоящим приказом, подлежит приведению в соответствие с данными общими фармакопейными статьями до 1 января 2019 года [24].

Цель работы — разработка подходов и определение возможности проведения испытания гетерологичных сывороточных препаратов по показателю «Стерильность» методом мембранной фильтрации.

Задачи исследования:

1. Определение возможности проведения испытания отечественных гетерологичных сывороток методом мембранной фильтрации с использованием закрытой системы.
2. Оценка результатов испытания стерильности сывороточных препаратов с использованием различных типов фильтроэлементов: нитрата или ацетата целлюлозы и Durapore® (PVDF) из поливинилиденфторида.
3. Оптимизация методики испытания для снижения риска получения недостоверных результатов.

4. Анализ результатов испытаний стерильности гетерологичных сывороток методом прямого посева и мембранной фильтрации.

5. Оценка применимости разработанной методики для различных гетерологичных сывороточных препаратов.

Материалы и методы

Материалы

Объектами настоящего исследования были образцы зарегистрированных в Российской Федерации препаратов гетерологичных сывороток:

- Сыворотка противостолбнячная лошадиная очищенная концентрированная, раствор для инъекций, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- Сыворотка противодифтерийная лошадиная очищенная концентрированная, раствор для инъекций, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- Сыворотки противоботулинические типов А, В и Е лошадиные очищенные концентрированные, раствор для инъекций, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- Сыворотка противогангренозная поливалентная лошадиная очищенная концентрированная, раствор для инъекций, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- Сыворотка против яда гадюки лошадиная очищенная концентрированная, раствор для инъекций, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия;
- Сыворотка лошадиная очищенная, разведенная 1:100, раствор для внутривенного введения, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, Россия.

Методы

Испытания по показателю «Стерильность» проводили в асептических условиях, исключающих контаминацию испытуемых образцов, в боксе биологической безопасности II класса:

- методом мембранной фильтрации в соответствии с ГФ XIII, ОФС 1.2.4.003.15 с использованием прибора Стеритест Компакт («Merck-Millipore») закрытого типа и фильтроэлементов: TZHA LA2 10, TLHALV2 10 (смешанные эфиры (нитрат-, ацетат-) целлюлозы), TZHV AB2 10 (Durapore®) (PVDF) (поливинилиденфторид) с применением основных стадий: смачивание мембран, подготовка образцов, фильтрация содержимого всех емкостей через мембранные фильтры, промывка мембранных фильтров соответствующим стерильным раствором, добавление питательной среды и инкубирование посевов;
- методом прямого посева в соответствии с требованиями, изложенными в нормативной документации на препараты [16–23].

Для правильной постановки испытания учитывали данные об отсутствии антимикробного действия препаратов.

Количество контролируемых емкостей на каждый температурный режим определяли с учетом общего количества емкостей в серии, а также объема первичной упаковки препарата в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность» [1].

Посевы инкубировали 14 сут при температуре (32,5±2,5) °С и при температуре (22,5±2,5) °С в жидкой тигмогликолевой и соево-казеиновой средах соответственно, независимо от метода посева. Определение ростовых свойств питательных сред проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность» [1, 25].

В ходе исследования испытано более 70 серий 8 наименований зарегистрированных в Российской Федерации отечественных гетерологичных сывороточных препаратов.

Результаты и обсуждение

В работе изучены свойства наиболее универсальных мембранных фильтров, выпускаемых для оценки качества методом мембранной фильтрации различных по свойствам лекарственных средств. Широко используемые во всем мире для этих целей фильтры из смеси эфиров ацетата и нитрата целлюлозы, по данным авторов соединяющие в себе свойства двух типов мембран, гидрофильны, имеют небольшую экстрагируемость (<1,0 %), низкий коэффициент связывания белка и высокую пористость, обеспечивающую высокую скорость потока [26]. Мембранные фильтры Durapore® из поливинилиденфторида имеют сходные характеристики, сохраняя свои гидрофильные свойства, но обладают меньшей экстрагируемостью (<0,5 %), более широкой химической совместимостью и низкой связываемостью белков. Так, например, фильтры MF-Millipore из смеси ацетата и нитрата целлюлозы — TZHA LA2 10, TLHALV2 10, впаянные в канистры, сорбируют до 150 мкг/см² белка, фильтры Durapore® (PVDF) с гидрофобным краем сорбируют значительно меньше белка — до 4 мкг/см² [26].

Проведен расчет максимально возможных белковых нагрузок гетерологичных сывороток на мембрану фильтра при испытании образцов в количестве (в зависимости от объема серии) в соответствии с требованиями ГФ XIII ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность» [1]. При посеве пяти–десяти образцов (расфасованных по 1,0–17,4 мл) с концентрацией белка согласно НД от 0,08 до 14 % максимальная нагрузка для большинства препаратов составит от 2 до 12 г.

Расчет проводили по формуле: $M_{г\max} = (C \cdot n \cdot V)/100$, где C — концентрация белка, %; n — количество образцов; V — объем препарата в первичной упаковке, мл.

В таблице 1 представлены данные по максимальному содержанию белка в испытуемой пробе при контроле стерильности гетерологичных сывороток 8 наименований, с учетом количества образцов, требуемых для испытания.

Испытание сывороток было проведено с использованием различных фильтроэлементов: с мембранами из смешанных эфиров целлюлозы и мембраной Durapore®.

Процедуру смачивания и промывки мембранных фильтров проводили с одинаковой скоростью 0,9 % раствором натрия хлорида. Для снижения сорбции белков все содержимое каждой из 5–10 емкостей с испытуемым препаратом без пробоподготовки пропускали через мембраны канистр двух типов, увеличив скорость фильтрации в 1,5–2 раза. В связи с тем, что исследуемые препараты не обладали антимикробным действием, дополнительную отмывку не проводили. Добавление питательных сред (тиогликолевая и соево-казеиновая) по 100 мл в каждую канистру проводили со скоростью, применяемой при процедуре смачивания фильтров. Инкубирование посевов, учет и интерпретацию результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность».

Проведенные по данной схеме испытания отечественных гетерологичных сывороточных препаратов показали возможность проведения контроля стерильности методом мембранной фильтрации с использованием закрытой системы. Основные стадии методики: смачивание мембран, фильтрация испытуемых образцов всех восьми типов гетерологичных сывороток с белковой нагрузкой в среднем от 2 до 12 г на мембрану и промывка мембранных фильтров по 100 мл 0,9 % стерильным раствором натрия хлорида с последующим добавлением питательной среды были успешно проведены. Образцы препаратов проходили че-

Таблица 1. Белковая нагрузка на мембрану при испытании стерильности гетерологичных сывороток методом мембранной фильтрации в соответствии с требованиями ГФ XIII ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность»

№ п/п	Наименование препарата	Белок, % по НД, С	Максимальное количество образцов, n	Объем препарата/объем на мембрану, V , мл	Белковая нагрузка, $M_{г\max}$
1	Сыворотка противостолбнячная лошадиная очищенная концентрированная жидкая (сыворотка противостолбнячная) раствор для внутримышечного и подкожного введения 3000, 10000, 20000, 50000 ME	8–12	10	3/30	2,4–3,6
2	Сыворотка противоботулиническая типа А лошадиная очищенная концентрированная жидкая, 10000 ME/мл	8–12	10	5/50; 10/100	4 – 12
3	Сыворотка противоботулиническая типа В лошадиная очищенная концентрированная жидкая, 5000 ME/мл	8–13	10	5/50; 8,5/85	4–11,2
4	Сыворотка противоботулиническая типа Е лошадиная очищенная концентрированная жидкая 10000 ME/мл	8–12	10	5/50; 10/100	4–12
5	Сыворотка противогангренозная поливалентная лошадиная очищенная концентрированная. Антитоксин гангренозный раствор для инъекций 30000 ME/доза	8–14	5	17,4/87	7–12
6	Сыворотка противодифтерийная лошадиная очищенная концентрированная. Антитоксин дифтерийный раствор для внутримышечного и подкожного введения 10000 ME	8–12	10	5/50; 10/100	4–12
7	Сыворотка лошадиная очищенная, разведенная 1:100, раствор для внутривенного введения	0,08–0,13	10	1/10	0,008–0,013
8	Сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая. Антитоксин яда гадюки обыкновенной раствор для инъекций 150 AE/доза	8–12	10	1/10	0,8–1,2

рез мембранные фильтры, изготовленные как из смешанных эфиров целлюлозы, так и Durapore® (PVDF). Отличий в испытаниях, проведенных с использованием различных мембранных фильтров, выявлено не было, что свидетельствовало о возможности использования обоих типов мембран в испытании на стерильность данных препаратов.

Все образцы сывороток удовлетворяли требованиям испытания на стерильность.

С целью повышения достоверности результатов испытания была предпринята попытка модифицировать методику.

Учитывая физико-химические особенности сывороточных препаратов (вязкость, способность к набуханию, гидрофобность, высокая молекулярная масса и т.д.), было предложено проводить пробоподготовку предварительным разведением образцов в отдельной стерильной емкости в среднем в 1,5–2 раза стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида.

Проведенные по модифицированной схеме испытания показали, что предварительно разведенные в 1,5–2 раза 0,9 % раствором натрия хлорида образцы гетерологических сывороточных препаратов проходили через мембраны быстрее. Снижение концентрации гидрофобных белков в ходе данной процедуры уменьшает время

контакта с мембраной и создает более щадящие условия для сохранения жизнеспособности возможного контаминанта, что, в свою очередь, позволяет снизить риск получения ложноотрицательных результатов. Тем не менее, введение стадии пробоподготовки в отдельной емкости повышает риск дополнительной контаминации и возможного получения ложноположительных результатов.

Для устранения возможности получения ложных положительных результатов и снижения риска недостоверных, ложных отрицательных результатов было предложено проводить пробоподготовку образцов не в отдельной емкости, как рекомендовано ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность», а непосредственно в канистре фильтроэлемента.

Испытания показали, что при модификации пробоподготовки образцы препаратов распределялись более равномерно, процесс фильтрации проходил по всей площади мембраны, в отличие от стандартной процедуры, при которой фильтрация образца проходит в ограниченной зоне мембраны, куда он поступает из трубки фильтроэлемента. Длительность процедуры сократилась.

Были успешно проведены основные стадии испытания: фильтрация всего содержимого каждой емкости и отмывка мембранных фильтров при испытании препаратов, расфасованных как по 1–2 мл, так и препаратов, упакован-

Таблица 2. Результаты испытания образцов гетерологических сывороток по показателю «Стерильность» методом мембранной фильтрации и прямого посева

№ п/п	Наименование препарата / Количество препарата в емкости / Количество испытанных образцов	Концентрация белка, %*	Объем препарата на мембрану, мл	Белковая нагрузка на мембрану, г _{max}	Результаты испытания стерильности	
					Метод прямого посева	Метод мембранной фильтрации
1	Сыворотка лошадиная очищенная разведенная 1:100, раствор для внутрикожного введения/1,0 мл/10 амп.	0,11	10	0,01	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
2	Сыворотка противостолбнячная лошадиная очищенная концентрированная жидкая (сыворотка противостолбнячная) раствор для внутримышечного и подкожного введения 3000 МЕ/2,5 мл/10 амп.	9,9	25	2,5	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
3	Сыворотка противоботулиническая типа А лошадиная очищенная концентрированная жидкая, 10000 МЕ/мл/8,4 мл/10 мл	9,6	84	8,0	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
4	Сыворотка противоботулиническая типа В лошадиная очищенная концентрированная жидкая, 5000 МЕ/мл/3,6 мл/10 амп.	10,4	36	3,8	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
5	Сыворотка противоботулиническая типа Е лошадиная очищенная концентрированная жидкая, 10000 МЕ/мл /8,4 мл/10 амп.	10	84	8,4	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
6	Сыворотка противогангренозная поливалентная лошадиная очищенная концентрированная. Антитоксин гангренозный раствор для инъекций 30000 МЕ/доза 17,4 мл/5 амп.	13,5	87	12	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
7	Сыворотка противодифтерийная лошадиная очищенная концентрированная. Антитоксин дифтерийный раствор для внутримышечного и подкожного введения 10000 МЕ/6,3 мл/10 амп.	9,3	63	5,8	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно
8	Сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая. Антитоксин яда гадюки обыкновенной раствор для инъекций 150 АЕ/доза/1,4 мл/10 амп.	10	14	1,4	Соответствует стерильно	Соответствует стерильно

* Паспортные данные.

ных по 17 мл, т.е. в количестве от 10–20 мл до 85 мл на каждую мембрану. Предложенная пробоподготовка препаратов разведением в 1,5–2 раза 0,9 % раствором натрия хлорида не в отдельной емкости, а непосредственно в канистре фильтроэлемента исключает возможность дополнительной контаминации испытуемого препарата и позволяет проводить фильтрацию предварительно объединенной (общей) пробы по всей площади мембраны, увеличивая «скорость» фильтрации и отмывки мембраны.

Одновременно качество исследуемых гетерологических сывороток по показателю «Стерильность» оценивали методом прямого посева в соответствии с требованиями НД на соответствующий препарат с использованием аналогичных питательных сред. Использовали соотношение испытуемого образца и питательной среды 1:10. Как видно из данных таблицы 2, результаты испытания препаратов, как методом прямого посева, так и мембранной фильтрации полностью совпадали. Все серии препаратов были стерильными и соответствовали требованиям НД по показателю «Стерильность». Модифицированная методика испытания на стерильность методом мембранной фильтрации с использованием закрытой системы Стеритест Компакт и соответствующей пробоподготовки была апробирована на образцах более 70 серий всех 8 наименований отечественных гетерологических сывороточных препаратов с белковой нагрузкой до 12 г белка на мембрану. Отличий при испытании различных гетерологических сывороточных препаратов не установлено.

Показано, что испытание этих препаратов можно проводить методом мембранной фильтрации с помощью закрытой системы с фильтроэлементами из смешанных эфиров целлюлозы или Dugapore® (PVDF), как по традиционной схеме, так и используя ряд модификаций при процедуре пробоподготовки, обеспечивающей снижение концентрации белка, более равномерное распределение препарата по поверхности мембраны, препятствующее закупорке пор фильтра белком, а также увеличение площади фильтрации и создание более щадящих условий для возможного контаминанта. Оптимизированные условия проведения пробоподготовки сывороточных препаратов позволяют повысить достоверность исследования за счет снижения риска получения как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов.

Предлагаемая модификация методики позволяет использовать для проведения испытания по показателю «Стерильность» более надежный и современный метод мембранной фильтрации и может быть рекомендована для включения в НД на соответствующие препараты наряду с используемым в настоящее время методом прямого посева.

Таким образом, результаты проведенной работы позволяют сделать следующие выводы:

1. Определен диапазон белковой нагрузки на мембрану фильтра при испытании сывороточных препаратов по показателю «Стерильность» методом мембранной фильтрации в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность».
2. Доказана возможность проведения испытания отечественных гетерологических сывороточных препаратов методом мембранной фильтрации с использованием закрытой системы.
3. Установлена возможность использования различных типов фильтроэлементов из смешанных эфиров целлюлозы и Dugapore® (PVDF) для проведения испытания методом мембранной фильтрации гетерологических сыво-

роточных препаратов с белковой нагрузкой до 12 г белка на мембрану.

4. Разработана модификация методики проведения испытания стерильности гетерологических сывороток методом мембранной фильтрации путем оптимизации процедуры пробоподготовки, позволяющая снизить риск получения недостоверных результатов.

5. Показана сопоставимость результатов испытаний стерильности гетерологических сывороточных препаратов методом прямого посева и мембранной фильтрации.

6. Обоснована применимость разработанной методики метода мембранной фильтрации для проведения испытания по показателю «Стерильность» различных отечественных гетерологических сывороточных препаратов и возможность внесения этого метода в соответствующий раздел НД на препараты.

Литература

1. ОФС. 1.2.4.003.15 «Стерильность». Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
2. The International Pharmacopoeia (First and Second Supl.) 4th ed. 2011. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/about>.
3. European Pharmacopoeia 9.0; 2017: 20601. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
4. Indian Pharmacopoeia, 2.2.11/6.0/2012.
5. Japanese Pharmacopoeia, 4.06/XVI/2012.
6. USP, Американская фармакопея, 35/<71>/2012.
7. Балашенко СГ, Урбан ВП. Иммуные глобулины в ветеринарии. Минск: 1972.
8. Незлин РС. Строение и биосинтез антител. М.: 1972.
9. ФС. 3.3.1.0041.15. Сыворотка противогангренозная поливалентная лошадиная. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
10. ФС. 3.3.1.0042.15. Сыворотки противоботулинические типов А, В, Е лошадиные. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
11. ФС. 3.3.1.0043.15. Сыворотка противодифтерийная лошадиная. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
12. ФС. 3.3.1.0044.15. Сыворотка противостолбнячная лошадиная. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
13. ФС. 3.3.1.0045.15. Сыворотка против яда змеи гадюки обыкновенной лошадиная. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
14. ФС. 3.3.1.0046.15. Сыворотка лошадиная, разведенная 1:100. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. Т. 3. М. 2015. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
15. Мовсисянц АА, Бондарев ВП, Олещук ЮВ, Меркулов ВА, Шимчук ЛФ. Стандарты качества иммунобиологических лекарственных препаратов — новое в Государственной фармакопее Российской Федерации. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (2): 38–41.
16. Сыворотка лошадиная очищенная разведенная 1:100, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия, ЛС-000349-010212, Изменения № 1, 2, 3.
17. Сыворотка противоботулиническая типа А лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия, ЛС-001212-220711, Изменение № 1, 2, 3.
18. Сыворотка противоботулиническая типа В лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия ЛС-001213-270711, Изменение № 1, 2, 3.
19. Сыворотка противоботулиническая типа Е лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия ЛС-001214-220711, Изменение № 1, 2, 3.

20. Сыворотка противогангренозная лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия ЛС-001035-301211, Изменение № 1, 2, 3, 4.
21. Сыворотка противодифтерийная лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия ЛС-001409-211211, Изменение № 1, 2, 3.
22. Сыворотка противостолбнячная лошадиная очищенная концентрированная жидкая, ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия ЛС-000058-200911, Изменение № 1, 2, 3, 4.
23. Сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая (Антитоксин яда гадюки обыкновенной), ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, Россия Р N002482/01-010212, Изменение № 1.
24. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 28 октября 2015 г. № 770 «О внесении изменений в приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 ноября 2014 г. № 768 «Об утверждении общих фармакопейных статей и фармакопейных статей».
25. Суханова СМ, Бердникова ЗЕ, Захарова НЕ. Новый подход к испытаниям препаратов лекарственных средств на стерильность. В кн.: Всерос. научн.-практич. конф. «Вакцинология-2010». Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней. М; 2010. С. 108.
26. Система для контроля стерильности лекарственных препаратов Steritest. Available from: <https://goo.gl/5ZRQN8>.

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.

Суханова Светлана Михайловна. Начальник лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Бердникова Зинаида Евтропиевна. Главный эксперт лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Адрес для переписки: Суханова Светлана Михайловна; SuhanovaSM@expmed.ru

Development of new approaches to sterility testing of heterologous serum products by membrane filtration method

S. M. Sukhanova, Z. E. Berdnikova

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

Reliable evaluation of blood products sterility is a very important and one of the most complex and critical control methods in the context of microbiological safety. The membrane filtration method that uses a closed-circuit system has, for many years, been the main and the most preferable sterility test method for all known medicinal products. However, Russian manufacturers perform sterility testing of heterologous serum products by direct inoculation method only. The present study was aimed at exploring the feasibility of performing sterility testing of heterologous serum products by membrane filtration. It was shown that sample preparation could be modified by dilution of samples to, on average, 1.5–2 times the initial volume with a sterile 0.9 % sodium chloride solution followed by membrane filtration at a geared-up rate which lowers protein sorption by the membrane filter. The study helped to determine the range of protein impact on the membrane when testing serum products according to the State Pharmacopoeia 13th ed. It was shown that various types of filter elements from mixed cellulose esters and Durapore® (PVDF) could be used to test serum products by membrane filtration with a protein impact range of up to 12 g of protein per membrane. The results of heterologous serum products sterility testing by direct inoculation method and by membrane filtration were found to be comparable. Adaptation of the procedure to protein-containing products makes it possible to perform sterility testing by a more reliable and modern method. The authors can recommend the incorporation of the above-cited test procedure into quality standards for products concerned together with the currently used direct inoculation method.

Key words: microbiological safety; drugs; heterologous serum products; sterility; membrane filtration; quality assessment.

For citation: Sukhanova SM, Berdnikova ZE. Development of new approaches to sterility testing of heterologous serum products by membrane filtration method. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(2): 103–109.

References

1. ОФС. 1.2.4.0003.15. Sterility. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
2. The International Pharmacopoeia (First and Second Supl.) 4th ed. 2011. Available from: <http://apps.who.int/phint/en/p/about>.
3. European Pharmacopoeia 9.0; 2017: 20601. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
4. Indian Pharmacopoeia, 2.2.11/6.0/2012.
5. Japanese Pharmacopoeia, 4.06/XVI/2012.
6. USP, the US Pharmacopoeia, 35/<71>/2012.
7. Balashenko SG, Urban VP. Immune globulins in veterinary. Minsk. 1972 (in Russian).
8. Neslin RS. Structure and biosynthesis of antibodies. Moscow. 1972 (in Russian).
9. ФС. 3.3.1.0041.15. Antigangrenous serum polyvalent horse. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
10. ФС. 3.3.1.0042.15. Anti-butulinic serum types A, B, E horse. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
11. ФС. 3.3.1.0043.15. Serum antidiphtheria horse. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
12. ФС. 3.3.1.0044.15. Anti-tetanus horse serum. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
13. ФС. 3.3.1.0045.15 Serum against venom of viper ordinary horse. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).

14. ФС. 3.3.1.0046.15 Serum horse, diluted 1:100. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th ed. V. 3. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).
15. Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products — new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2016; (2): 38–41 (in Russian).
16. Serum horse purified diluted 1:100, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia, LS-000349-010212, amendments No. 1, 2, 3 (in Russian).
17. Anti-butulinic serum type A horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia, LS-001212 – 220711, amendments No. 1, 2, 3 (in Russian).
18. Anti-butulinic serum type B horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia LS-001213 – 270711, Rev. 1, 2, 3 (in Russian).
19. Anti-butulinic serum type E horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia LS-001214 – 220711, amendments No. 1, 2, 3 (in Russian).
20. Antigangrenous serum horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia LS-001035 – 301211, amendments No. 1, 2, 3, 4 (in Russian).
21. Serum antidiphtheria horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia LS-001409 – 211211, amendments No. 1, 2, 3 (in Russian).
22. Anti-tetanus serum horse purified concentrated liquid, FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia LS-000058 – 200911, amendments No. 1, 2, 3, 4 (in Russian).
23. Serum against venom of viper ordinary horse purified concentrated liquid (Antitoxin venom of viper ordinary), FSUE «NPO «Microgen» MH RF, Russia RN002482/01-010212, amendment No. 1 (in Russian).
24. Order of the Ministry of health of the Russian Federation of 28 October 2015 № 770 «About modification of the order of Ministry of health of the Russian Federation from November 21, 2014 No. 768 «On approval of General Pharmacopoeia articles and Pharmacopoeia articles» (in Russian).
25. Sukhanova SM, Berdnikova ZE, Zacharova NE. A new approach to testing drugs for sterility. In: All-Russia Scientific-practical. conf. «Vaccinology-2010». Perfection of immunobiological means of prevention, diagnosis and treatment of infectious diseases. Moscow; 2010. P. 108 (in Russian).
26. System for controlling the sterility of medicinal products Steritest. Available from: <https://goo.gl/5ZRQN8> (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.

Sukhanova SM. Head of the Laboratory of Bacteriological Culture Media and Cell Cultures of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Berdnikova ZE. Chief expert of the Laboratory of Bacteriological Culture Media and Cell Cultures of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Contact e-mail: Sukhanova Svetlana Mikhailovna; SuhanovaSM@expmed.ru