

Е. С. Кормщикова, Е. В. Хлыбова, А. В. Дробкова



Выбор композиции стандартного образца антител человека к вирусу клещевого энцефалита

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России»

Основным требованием, предъявляемым к стандартным образцам, является стабильность заявленной активности на протяжении длительного срока годности. Изменение содержания основного компонента при хранении должно быть минимальным и, как правило, не должно превышать 5% от исходного значения, что, в случае образцов биологического происхождения, достигается внесением стабилизаторов.

Задачей настоящего исследования явился выбор оптимального состава стабилизирующих добавок стандартного образца антител человека к вирусу клещевого энцефалита (ВКЭ). Решение поставленной задачи осуществляли с использованием метода «ускоренного старения» путем расчета прогнозируемого срока хранения при температуре 4 °С на уровне не менее 97% от исходного значения. Ранее было показано, что лучшую сохранность специфической активности в концентратах антител человека к ВКЭ обеспечивают глицин и L-пролин. Объектом данного исследования явились четыре композиции лиофильно высушенных кандидатов в стандартный образец (КСО), стабилизированных смесью глицина и L-пролина (КСО 1, КСО 3) в концентрациях 1,25% либо глицином (КСО 2, КСО 4) в концентрации 2,5%.

КСО помещали в предварительно прогретые термостаты и хранили при температурах 56, 45 или 30 °С. Через 24, 38, 52, 74, 130 и 210 суток в КСО проводили оценку содержания антител к ВКЭ методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «ВектоВКЭ-IgG» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). На основании полученных данных для каждого КСО рассчитывали 3 константы инактивации при трех разных температурах и строили кривые зависимости вида:

$$\lg K_T = f\left(\frac{1}{T}\right),$$

Затем методом наименьших квадратов в среде MS Excel выводили уравнения линий тренда, представленных на рисунке. Все уравнения имели схожий характер и представляли собой линейные функции вида:

$$Y_{КСО1} = -1,45x + 0,61;$$

$$Y_{КСО2} = -1,46x + 0,96;$$

$$Y_{КСО3} = -1,52x + 0,90;$$

$$Y_{КСО4} = -1,51x + 1,10.$$

Коэффициент детерминации R^2 составил соответственно 0,99, 1,00, 0,99 и 0,98, что свидетельствовало об адекватности выбранной модели. В исследуемом диапазоне температур линии тренда не пересекались. Все это явилось основанием признания пригодности полученных зависимостей для корректного расчета предполагаемых сроков годности КСО.

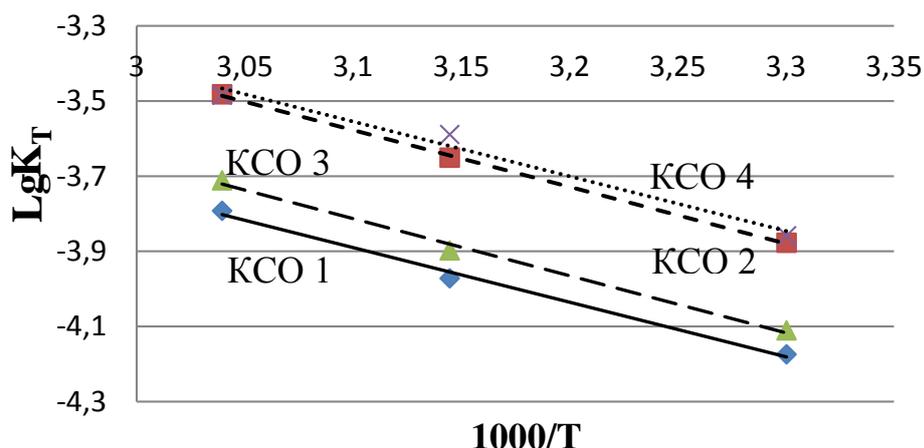


Рисунок 1 – Зависимость логарифма константы инактивации от обратной температуры в условиях «ускоренного старения».

Методом экстраполяции для каждого образца была вычислена константа скорости инактивации при предполагаемой температуре хранения (4 °С) и определено время, в течение которого концентрация активного вещества уменьшается на 3%. Прогнозируемые сроки годности КСО 1-4 составили соответственно 4,18; 2,19; 3,82; 1,94 года. То есть, для образцов КСО 1 и КСО 3, стабилизированных смесью глицина и L-пролина, наблюдалась лучшая сохранность специфической активности.

Таким образом, в ходе испытаний методом «ускоренного старения» установлено, что оптимальным является стабилиза-

ция стандартного образца антител человека к вирусу клещевого энцефалита смесью аминокислот глицин и L-пролин. Прогнозируемое значение срока годности 4 года при 4 °С предполагается подтвердить оценкой стабильности в реальном времени в условиях долгосрочного хранения.