

Producción

Instituto de Hematología e Inmunología
Centro de Inmunología Molecular

ESTABILIDAD DEL PRODUCTO HEMOCLASIFICADOR HEMO-CIM® ANTI-B. EVALUACIÓN DURANTE 2 AÑOS

Lic. Lilia E. Suárez Batista,¹ Lic. René A. Rivero Jiménez,¹ Lic. Antonio A. Bencomo Hernández,¹ Lic. Marta N. Martínez Solís,¹ Dra. Renée González Sampedro¹ y Dra. Teresita Rodríguez Obaya²

RESUMEN

Los estudios de estabilidad de los reactivos fabricados a partir de anticuerpos monoclonales de origen murino, permiten establecer adecuadamente la vida de estos productos, y su realización constituye un requisito indispensable en el cumplimiento de las buenas prácticas de producción. Se usaron los métodos de hemaglutinación para medir la actividad biológica del producto Hemo-CIM® Anti-B expresada en la potencia, la avidez y la intensidad, frente a un panel de eritrocitos del grupo B y A,B, para demostrar más efectivamente cualquier deterioro del reactivo. Se estableció que la vida útil del hemoclasificador producido en el Centro de Inmunología Molecular es de 2 años con una temperatura de almacenamiento entre 2 y 8 °C. La evaluación que simula las condiciones a la que los usuarios someten a estos reactivos, demostró que el reactivo mantiene las características de calidad que se requieren para su uso. La estabilidad lograda con el Hemo-CIM® Anti-B es similar a la informada con el producto hemoclasificador monoclonal murino Hemo-CIM® Anti-A.

DeCS: INDICADORES Y REACTIVOS; ANTICUERPOS MONOCLONALES.

La comercialización, distribución y uso diagnóstico de los reactivos hemoclasificadores monoclonales Hemo-CIM® Anti-A y Hemo-CIM® Anti-B en Cuba fue posible una vez que se realizó el registro de estos productos ante el Centro Estatal para el

Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED), la agencia reguladora nacional.

Un conjunto de actividades se realizaron para lograr el registro de estos productos, entre ellas los estudios de estabilidad en anaquel, que constituyen un

¹ Instituto de Hematología e Inmunología.

² Centro de Inmunología Molecular.

requisito indispensable en las buenas prácticas de producción (BPP).

Los estudios de estabilidad sumunistran las evidencias de cómo la calidad del producto varía con el tiempo bajo la influencia de una variedad de factores ambientales, tales como la temperatura, la humedad y la luz y establece el tiempo de caducidad y las condiciones de almacenamiento adecuada del producto.¹

El objetivo de este estudio fue establecer el período de caducidad del Hemo-CIM® Anti-B, dentro del cual el producto cumple con los requisitos de calidad exigidos por las agencias reguladoras para este tipo de reactivo.

MÉTODOS

En el estudio se incluyeron 3 lotes del reactivo, que se manufacturaron consecutivamente en el Centro de Inmunología Molecular (CIM) siguiendo los procedimientos normalizados de operación (PNO) y lo establecido en los registros de lotes para la formulación, llenado, envase y etiquetado. Se tuvo en cuenta que los frascos usados para este estudio fueran los mismos en que se envasaría el producto para su almacenamiento y distribución.²

La selección de los lotes se realizó de forma aleatoria, una vez que se evaluaron y liberaron en el Departamento de Calidad del CIM por cumplir con las especificaciones de calidad.

Para definir la calidad del producto se analizaron la potencia, la intensidad y la avidez del reactivo en las reacciones de aglutinación frente a un panel de eritrocitos, en el que se incluyeron células con expresión débil del antígeno B, con el fin de detectar con más efectividad cualquier deterioro que sufriera el reactivo durante el estudio, al estar controladas las características susceptibles de cambiar durante el almacenamiento y que influyen en la calidad, seguridad y eficacia (tabla 1).^{1,3} Los

frascos de cada lote se almacenaron entre 2 y 8 °C durante el tiempo del estudio; de ellos, un frasco de cada uno de los 3 lotes de Hemo-CIM® Anti-B se mantuvo 5 horas diarias a 21 °C durante 4 meses a partir del mes 0 y a los 8, 14, 22 meses de su producción, simulando las condiciones a las que se someten estos reactivos diagnosticadores en los centros donde se realiza tipaje sanguíneo, con esta estrategia se controló el almacenamiento y uso subsecuente de los productos una vez manufacturados.² Las evaluaciones del producto almacenado a una temperatura entre 2 y 8 °C se realizaron con una periodicidad bimensual, y en los frascos mantenidos a 21 °C , una vez por semana durante los 4 meses de cada período, hasta que se agotó el reactivo.

TABLA 1. Células utilizadas en el estudio

Reactivo evaluado	Células utilizadas en la evaluación	
	Cantidad de donantes	Fenotipo celular
Hemo-CIM®	1	B
Anti-B	3	A ₁ B

RESULTADOS

Los lotes del producto Hemo-CIM® Anti-B almacenados entre 2 y 8 °C mantuvieron las especificaciones que se requieren para su uso. En la tabla 2 se muestran los valores de potencia, avidez e intensidad de reacción al inicio, al año y a los 2 años de almacenamiento. También los frascos que se colocaron en la meseta de trabajo durante 5 horas a 21 °C, y que se chequearon durante 4 meses a partir del mes 0, 8, 14 y 22, mantuvieron las especificaciones de calidad requeridas, por lo que en la tabla 3 solo se muestran los resultados en la primera y última semana de este estudio en cada una de las etapas de evaluación.

TABLA 2. Resultados de la potencia, avidez e intensidad de los 3 lotes del Hemo-CIM® Anti-B que se mantuvieron a una temperatura entre 2 y 8 °C

Fecha del estudio	Técnica	Panel celular	Hemo-CIM® Anti-B Lotes 1, 2 y 3	
Inicio: marzo de 1996	Tubo (potencia) 2 ⁿ	B	7 ^a	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	6	
	Lámina (avidez e intensidad)	B	2 ^b	4+ ^c
		A ₁ B	2 ^c	3+
Al año: marzo de 1997	Tubo	B	7	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	6	
	Lámina	B	2 ^c	4+
		A ₁ B	2 ^c	3+
Fin: marzo de 1998	Tubo	A ₁ B	2 ^c	3+
		A ₁ B	2 ^c	4+
	Lámina	B	7	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	5	
		A ₁ B	6	
		B	2 ^c	4+
		A ₁ B	2 ^c	3+
		A ₁ B	2 ^c	3+
		A ₁ B	2 ^c	4+

a) Recíproco de la mayor dilución en la que se observa aglutinación (7 equivale a $1/2^7 = 1/128$). b) Avidez en segundos.
c) Intensidad en cruces de la fuerza de la reacción de aglutinación, escala de 4+ (máximo) a 0 (no aglutina).

Tabla 3. Potencia, avidez e intensidad de los 3 lotes del Hemo-CIM® Anti-B. Temperatura entre 21 y 25 °C

Tiempo de producción	Fecha del estudio	Técnica	Panel celular	Hemo-CIM® Anti-B Lotes 1, 2 y 3	
Mes 0	Semana 1: marzo de 1996	Tubo (potencia) 2 ⁿ	B	7 ^a	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	6	
		Lámina (avidez e intensidad)	B	2 ^b	4 + ^c
			A ₁ B	2 ^c	3+
			A ₁ B	2 ^c	4+
			A ₁ B	2 ^c	4+
	Semana 16: julio 1996	Tubo	B	7	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	6	
		Lámina	B	2 ^c	4+
			A ₁ B	2 ^c	3+
			A ₁ B	2 ^c	3+
			A ₁ B	2 ^u	4+
Semana 1: noviembre de 1996	Tubo	B	7		
		A ₁ B	5		
		A ₁ B	5		
		A ₁ B	6		
	Lámina	B	2 ^c	4+	

Tabla 3. (Continuación)

Tiempo de producción	Fecha del estudio	Técnica	Panel celular	Hemo-CIM® Anti-B Lotes 1, 2 y 3	
Mes 8	Semana 16: abril de 1996	Tubo	A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Lámina	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Tubo	B	7	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	6	
			B	2'	4+
			A ₁ B	2'	3+
Mes 14	Semana 1: junio de 1997	Tubo	A ₁ B	2'	4+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Lámina	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	5	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Tubo	B	7	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	5	
			A ₁ B	6	
			B	2'	4+
			A ₁ B	2'	3+
Mes 22	Semana 1: enero de 1998	Tubo	A ₁ B	2'	4+
			A ₁ B	2'	4+
			A ₁ B	2'	4+
		Lámina	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	5	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Tubo	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	5	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+
Mes 22	Semana 16: mayo de 1998	Tubo	A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Lámina	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	5	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+
			A ₁ B	2'	3+
			A ₁ B	2'	4+
		Tubo	B	7	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	4	
			A ₁ B	5	
			B	2'	4+
			A ₁ B	3'	3+

a) Recíproco de la mayor dilución en la que se observa aglutinación (7 equivale a $1/7 = 1/128$). b) Avidéz en segundos. c) Intensidad en cruces de la fuerza de la reacción de aglutinación, escala de 4+ (máximo) a 0 (no aglutina).

Los 3 lotes de Hemo-CIM® Anti-B reaccionaron frente al panel de eritrocitos dentro de los límites de aceptación recomendados por las agencias reguladoras internacionales y nacional^{3,4} para este tipo de reactivos con:

- Una potencia mayor que 1:64 (2^{-6}) con eritrocitos de grupo B y mayor o igual que 1:16 (2^{-4}) con eritrocitos A₁B.

- Una avidéz menor que 5 seg con eritrocitos de grupo A₁ y 10 segundos con eritrocitos A₁B.
- Una intensidad mayor que 2+.

DISCUSIÓN

El producto Hemo-CIM® Anti-B es estable por un período de 2 años a una

temperatura entre 2 y 8 °C, lo que permite su uso en los centros donde se realiza la determinación de grupo sanguíneo ABO.

Los eritrocitos A₁B tienen una baja expresión del antígeno B y se utilizaron durante la evaluación del reactivo Hemo-CIM® Anti-B para demostrar más efectivamente el deterioro del reactivo durante el estudio. Esta estrategia nos permitió demostrar que estamos en presencia de un producto que mantiene sus características de calidad, aún simulando las condiciones a la que los usuarios someten a estos reactivos, avalado por los valores mínimos de potencia obtenidos (16 y 32) frente a 3

muestras diferentes de eritrocitos A₁B durante todo el estudio.

Se demostró la consistencia entre los lotes del producto, lo que avala el proceso productivo establecido en el CIM para la manufactura de dicho reactivo, por lo que el registro se otorgó con un período de validez de 16 meses como reactivo diagnosticador.

La estabilidad lograda con el Hemo-CIM® Anti-B es similar a la informada con el producto hemoclasificador monoclonal murino Hemo-CIM® Anti-A,⁵ por lo que el país cuenta ya con 2 reactivos hemoclasificadores eficaces para el sistema ABO.

SUMMARY

The stability studies of the reagents made from monoclonal antibodies of murine origin allow to establish the life of these products adequately and are an indispensable requisite for the fulfillment of the good practices of production. The hemagglutination methods were used to measure the biological activity of the Anti-B Hemo-CIM® product expressed in the potency, avidity and intensity against a panel of erythrocytes of the group B and A₁B in order to show in a more effective way any deterioration of the reagent. It was established that the useful life of the hemoclassifier produced at the Center of Molecular Biology is of 2 years at a storage temperature between 2 and 8°C. The evaluation that simulates the conditions to which the users subject these reagents showed that the reagent maintains the quality characteristics required for its use. The stability attained with the Anti-B Hemo-CIM® is similar to that reported with the murine monoclonal Anti-A Hemo-CIM® hemoclassifier product.

Subject headings: INDICATORS AND REAGENTS; ANTIBODIES, MONOCLONAL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Conference on Harmonisation (ICH). Stability testing of new substances and products ICH Harmonised Tripartite Guideline. October 27th, 1993:1-4.
2. International Conference on Harmonisation (ICH). Guidance for industry. Stability testing of drug substances and drug products. Draft Guidance, June, 1998:3-21.
3. Centro Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). Guía para la evaluación de los diagnosticadores. Anexo. Diagnosticadores en inmunohematología República de Cuba, 1996:3-17.

4. US Food and Drug Administration. Recommended methods for blood grouping reagents evaluation. Docket No. 845-0181, March, 1992:1-53.
5. Suárez L, Rivero R, Pérez N, Bencomo A, Torres F, Martínez M, et al. Reactivo monoclonal cubano Hemo-CIM Anti A: Estudio de estabilidad. Rev Cubana Hematol Immunol Hemoter 1998 (en prensa).

Recibido: 28 de septiembre de 1999. Aprobado: 26 de noviembre de 1999.

Lic. *Lilia E. Suárez Batista*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: (537)578268. Fax: (537)338979. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu