© Коллектив авторов, 2020

Шведова Е.В., Кудашева Э.Ю., Климов В.И.

Методы оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D): современное состояние проблемы

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Препараты иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) – уникальные средства специфической перинатальной профилактики резус-иммунизации женщин с резус-отрицательной принадлежностью крови. Фармакологическое действие препаратов реализуется посредством антирезус Rh₀(D) IgG-антител (Ат) (анти-D-Ат), способных нейтрализовать резус-положительные эритроциты плода, попавшие в кровоток матери. Клиническая эффективность препаратов определяется специфической активностью иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) – содержанием анти-D-Ат. Выбор метода оценки специфической активности препаратов играет ключевую роль в обеспечении их потенциальной терапевтической эффективности. Методы автоматизированной гемагглютинации, иммуноферментного анализа и проточной цитофлуориметрии используются в мировой практике для оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D), тогда как в нашей стране указанные методы не внедрены на отечественных производствах иммунобиологических лекарственных средств. В настоящем исследовании проанализированы этапы совершенствования методов оценки специфической активности, особенности их воспроизведения, а также преимущества и недостатки. Установлено, что количественная оценка содержания анти-D-Ат в Международных единицах активности или микрограммах в сравнении с Международным стандартным образцом активности иммуноглобулина антирезус инструментальным методом является необходимым условием получения качественных препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D). В обсуждении приведены полученные на текущий момент знания, по результатам их анализа обоснован вывод о необходимости совершенствования методов оценки специфической активности отечественных препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) в соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методам испытаний. Для поиска литературы использовались базы данных Scopus, Web of Science, Pubmed, WHO, Global Health, elibrary, EMA, FDA, а также Государственная фармакопея Российской Федерации.

Ключевые слова: иммуноглобулин человека антирезус Rh₀(D); современные методы количественной оценки; специфическая активность; фенотип эритроцитов; анти-D-антитела

Статья получена 20.02.2020. Принята в печать 16.04.2020.

Для цитирования: Шведова Е.В., Кудашева Э.Ю., Климов В.И. Методы оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D): современное состояние проблемы. Иммунология. 2020, 41 (3): 256–261. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-256-261

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Шведова Евгения Владимировна –
эксперт лаборатории
иммуноглобулинов и препаратов крови
Испытательного центра
экспертизы качества МИБП
ФГБУ «Научный центр экспертизы
средств медицинского применения»
Минздрава России, Москва,
Российская Федерация
E-mail: NovikovaEV@expmed.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9229-3677>

Shvedova E.V., Kudasheva E.Yu., Klimov V.I.

Methods for evaluating the specific activity of preparations of human antirhesus Rh₀(D): current status of the problem

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation, 127051, Moscow, Russian Federation

Abstract

Preparations of immunoglobulin human antirhesus Rh₀(D) are unique means of specific perinatal prevention of Rh-immunization of women with Rh-negative blood affiliation. The pharmacological effect of the drugs is realized by means of antirhesus Rh₀(D) IgG antibodies (Ab) (anti-D-Ab) that can neutralize Rh-positive fetal red blood cells that have entered the mother's bloodstream. The choice of a method for evaluating the specific activity (content of anti-D-Ab) in human immunoglobulin preparations plays a key role in ensuring their potential therapeutic effectiveness. Methods of automatic continuous analysis of hemagglutination, enzyme-linked immunoassay and flow cytometry are used in the world practice to assess the specific activity of human immunoglobulin antirhesus Rh₀(D), whereas in our country these methods are not implemented in domestic immunobiological drug production. This research analyzes the stages of improvement of methods for evaluating specific activity, features of their reproduction, as well as advantages and disadvantages. Quantitative assessment of the content of anti-D-Ab in International units of activity or micrograms in comparison with the International standard sample of activity of immunoglobulin antirhesus by instrumental method has been established as a necessary condition for obtaining high-quality human immunoglobulin antirhesus Rh₀(D). The discussion provides the knowledge obtained at the moment, as a result, is justified a conclusion about the prospects for improving the methods for evaluating the specific activity of domestic human immunoglobulin antirhesus Rh₀(D) preparations in accordance with modern requirements for bioanalytical methods. Scopus, Web of Science, Pubmed, WHO, Global Health, elibrary, EMA, FDA, and the State Pharmacopoeia of the Russian Federation were used to search for literature.

Keywords: preparations of Immunoglobulin human antirhesus Rh₀(D); modern methods of quantitative assessment; specific activity; red blood cell phenotype; anti-D-antibodies

Received 20.02.2020. Accepted 16.04.2020.

For citation: Shvedova E.V., Kudasheva E.Yu., Klimov V.I. Methods for evaluating the specific activity of preparations of human antirhesus Rh₀(D): current status of the problem. *Immunologiya*. 2020, 41 (3): 256–61. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-3-256-261 (in Russian)

Funding. The study was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For correspondence

Evgeniya V. Shvedova –
Expert of the Laboratory
of Immunoglobulins
and Blood Products
of the Testing Centre
for Evaluation and Control
of Medicinal Immunobiological
Products' Quality,
Scientific Centre
for Expert Evaluation
of Medicinal Products,
Moscow, Russian Federation
E-mail: NovikovaEV@expmed.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9229-3677>

Введение

Среди иммунологически обусловленных осложнений беременности ведущее место занимает гемолитическая болезнь плода и новорожденного, которая развивается вследствие несовместимости крови матери и плода по различным эритроцитарным антигенам (Ag) [1]. Среди Ag эритроцитов системы резус наиболее иммуногенным является Ag D, способный даже в малых дозах вызывать образование иммунных антител (At), которые являются причиной тяжелой гемолитической болезни [2].

Препараты иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) являются единственными лекарственными средствами, используемыми для специфической перинатальной профилактики резус-иммунизации женщин с резус-отрицательной принадлежностью крови. Они представляют собой концентраты антирезус Rh₀(D) IgG-At, полученные из плазмы крови здоровых доноров, иммунизированных D-Ag эритроцитов человека. Фармакологическое действие препаратов реализуется посредством антирезус-Rh₀(D) IgG-At (анти-D-At), способных нейтрализовать резус-положительные эритро-

циты плода, попавшие в кровоток матери. Клинически подтверждено, что введение рассчитанных доз препарата иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) снижает вероятность развития резус-иммунизации женщин приблизительно в 100 раз [3]. Неадекватная доза введения может привести к анафилактическим реакциям, гемолизу или не сможет обеспечить предотвращение изоиммунизации [4–7]. Таким образом, выбор метода оценки содержания анти-D-At в препаратах иммуноглобулинов человека играет ключевую роль в обеспечении их потенциальной терапевтической эффективности.

Цель работы – провести анализ методов оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D), используемых в мировой практике для разработки и внедрения перспективных подходов к количественному определению содержания антирезус Rh₀(D) IgG-At в препаратах отечественного производства.

Метод гематглютинации

Структурно анти-D-At являются неполными, что в отличие от полных At (полимерных молекул иммуно-

глобулина изотипа М, некоторых А и G) частично препятствует их визуализации в реакции преципитации [8, 9]. Причинами этого явления может быть экранирование одного из Ag-связывающих центров молекулы иммуноглобулина, а также недостаточное число или малая доступность антигенных детерминант в структуре белка [10, 11]. Поэтому в начале 1960-х годов для оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) был предложен метод непрямой (пассивной) гемагглютинации (непрямая проба Кумбса), основанный на реакции агглютинации резус-положительных эритроцитов, обработанных папаином, и антиглобулиновой сыворотки с анти-D-Ат в препарате. Для воспроизведения метода использовали D-положительные эритроциты I(0) группы крови человека любого фенотипа [12].

В 1968 г. в результате анализа данных, полученных при использовании указанного метода, было установлено, что титры антирезус Rh₀(D) Ат варьировали в широком диапазоне (до 500 раз) [13]. Поэтому в 1978 г. экспертная комиссия ВОЗ по стандартизации биологических препаратов инициировала глобальные исследования по разработке и аттестации Международного стандартного образца (МСО) содержания антирезус Rh₀(D) IgG-Ат с участием 24 лабораторий в 21 стране. Для определения содержания анти-D-Ат в МСО использовали метод изотопной маркировки, который позволил определить количественное содержание анти-D-Ат в микрограммах. Впоследствии МСО были присвоены международные единицы дозы вещества – МЕ (эквиваленты биологической активности). Установлено, что метод непрямой гемагглютинации в сравнении с МСО при параллельных постановках наиболее воспроизводим [14, 15]. В дальнейшем с целью минимизации субъективности оценки результатов, получаемых при использовании реакции гемагглютинации, было предложено применение автоматизированных систем оценки результатов.

При визуальном определении путем сравнения со стандартным образцом, результат оценивают по наличию агглютинации в гемолизате, образованном при добавлении эритроцитов и антиглобулиновой сыворотки в каждое последовательное разведение испытуемого и стандартного образцов. Последнее разведение, в котором наблюдается агглютинация, принимают за титр анти-D-Ат. Если агглютинация эритроцитов наблюдается во всех разведениях исследуемого образца, то титр Ат выше, чем полученные разведения. В этих случаях повторяют титрование, приготовив еще большие разведения исследуемого препарата [16]. При использовании прибора для автоматического анализа регистрируют оптическую плотность гемолизата, полученного в результате реакции гемагглютинации. По результатам измерений разведений стандартного образца строят калибровочный график зависимости значений оптической плотности от содержания анти-D-Ат и в линейном диапазоне определяют специфическую активность испытуемого образца [17].

Метод гемагглютинации имеет ряд существенных недостатков. Субъективная интерпретация результатов при визуальном полуколичественном определении в титрах не позволяет в полной мере охарактеризовать специфическую активность и может помешать адекватному расчету дозы введения. Отсутствие стандартизации фенотипов эритроцитов может влиять на правильность получаемых результатов как при визуальном, так и при автоматизированном контроле, поскольку различные Ag на поверхности клеточной мембраны могут оказывать влияние на связывание с анти-D-Ат. Это связано с неодинаковой экспрессией Ag D у различных индивидов с фенотипами эритроцитов, имеющими в своем составе набор резус-Ag CDe и cDE. В частности, полипептиды Ce и се, переплетающиеся в оболочке эритроцита с полипептидами D, затрудняют доступ анти-D-Ат к участкам D-Ag, в результате чего создается видимость слабого реагирования D-положительных эритроцитов с анти-D-сыворотками. При отсутствии полипептидов Ce и се в оболочке эритроцитов связыванию D-Ag с анти-D-Ат ничто не мешает, и реакция выглядит более сильной, хотя на тех и на других эритроцитах могло присутствовать одинаковое количество антигенных детерминант [18]. Антиглобулиновая сыворотка, используемая в методе, содержит множество компонентов, среди которых антикомплемментарные Ат, в частности к C3d-, C3c-, C4c- и C4d-компонентам комплемента, которые адсорбируются на поверхности эритроцитов и создают видимость положительного результата [19]. Также возможно получение результата отсутствия агглютинации, связанное с низкой аффинностью Ат сыворотки, сенсibiliзирующих эритроциты [20]. Поэтому дальнейшие исследования были направлены на совершенствование количественного определения специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) с использованием более чувствительных и точных инструментальных методов.

Успехи в развитии иммунохимических методов исследований, молекулярно-генетических технологий, в частности создание моноклональных Ат позволили разработать новые специфичные методы, такие как метод конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) и метод проточной цитофлуориметрии.

Метод конкурентного иммуноферментного анализа

Метод конкурентного ИФА для оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) был предложен S.J. Thorpe и коллегами в 2000 г. [21]. Метод основан на конкуренции меченых биотинилированных моноклональных анти-D-Ат к специфическому эпитопу D с немечеными (исследуемыми) Ат препарата за связывание с D-Ag эритроцитов, адсорбированными на твердой фазе. Количество меченых Ат, присоединившихся к эритроцитам, уменьшится пропорционально содержанию в смеси исследуемых Ат. Связывание с конъюгатом

для последующего выявления присоединившихся Ат достигается за счет использования системы «биотин–авидин–стрептавидин». Молекулы кофермента биотина конъюгируют с моноклональными анти-D-Ат при помощи биотинил-N-гидроксисукцимида. Затем биотин связывается с белковым комплексом авидин–стрептавидин, конъюгированным с щелочной фосфатазой. Аффинность связи между авидином и биотином высокая, константа диссоциации лиганда – 10^{-15} М, что обеспечивает высокую стабильность образовавшегося комплекса [22]. Стрептавидин используется для исключения неспецифической сорбции авидина на других молекулах. Конъюгат авидин–стрептавидин прочно фиксируется на комплексе, образованном биотинилированными моноклональными анти-D-Ат и Аг эритроцитов. После добавления субстрата (паранитрофенилфосфата) проводят определение продуктов реакции с использованием спектрофотометра. Для воспроизведения метода используют D-положительные эритроциты I(0) группы крови человека определенного фенотипа – R2R2, собранные не менее чем от 3 доноров. Значения активности определяют в МЕ в сравнении с МСО содержания антирезус Rh₀(D) IgG-Ат человека при построении графика зависимости концентрации и оптической плотности по данным, полученным из серии стандартных растворов. Высокая специфичность метода достигается за счет использования меченых Ат, поскольку конкуренция между ними и исследуемым образцом происходит только за специфический эпитоп D-Аг эритроцитов, что исключает неспецифическое связывание [23]. Высокая чувствительность, воспроизводимость и точность, производительность за счет использования многолуночных полистироловых планшетов, отсутствие зависимости от дорогостоящего оборудования делают метод наиболее универсальным. К недостаткам метода следует отнести высокую стоимость реагентов.

Метод проточной цитофлуориметрии

С начала 2000 г. для количественного определения специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) применяется высокочувствительный инструментальный метод с использованием проточного цитофлуориметра. Метод основан на измерении интенсивности флуоресценции комплекса, образованного специфическим связыванием D-положительных эритроцитов с анти-D-Ат, которые в свою очередь связываются с флуоресцентно-мечеными Ат к антирезус Rh₀(D) IgG-Ат (вторичными антителами) [24]. При этом значения активности получают в МЕ в сравнении с МСО содержания антирезус Rh₀(D) IgG-Ат человека при построении графика зависимости логарифма концентрации и интенсивности флуоресценции по данным, полученным из серии стандартных растворов. Для воспроизведения метода используют D-положительные эритроциты I(0) группы крови человека фенотипа R1R1, собранные не менее чем от 3 доноров.

К недостаткам метода можно отнести возможное влияние различных Аг эритроцитов (Аг системы резус С, С^w, а также Аг системы Kell), которые могут создавать эффект интерференции, что может влиять на правильность получаемых результатов [25, 26]. Использование специального дорогостоящего оборудования и реагентов не всегда доступно для некоторых лабораторий, кроме того, предъявляются высокие требования к квалификации персонала [27].

Обсуждение

В первых разработанных препаратах иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) содержание специфических Ат оценивали в титрах в реакции непрямой (пассивной) геммагглютинации (непрямой пробе Кумбса), что не позволяло количественно оценить содержание антирезус Rh₀(D) IgG-Ат, способных нейтрализовать резус-положительные эритроциты плода.

В результате разработки МСО содержания антирезус Rh₀(D) IgG-Ат и внедрения современных иммунохимических методов стало возможным проводить оценку специфической активности препаратов иммуноглобулинов антирезус Rh₀(D) количественно в МЕ или в мкг по отношению к МСО (1 мкг = 5 МЕ) [28]. Профилактическую дозу препарата рассчитывают после подсчета количества эритроцитов плода, попавших в кровоток матери, с использованием лабораторных методов анализа, например, модифицированным методом кислотного вымывания-окрашивания по Кляйхауэру и Бетке [29–31]. Установлено, что 10 мкг (50 МЕ) антирезус Rh₀(D) IgG-Ат нейтрализует 0,5 мл резус-положительных эритроцитов плода (или 1 мл цельной крови) [32]. Для обеспечения правильности и удобства расчета профилактических доз введения содержание специфических Ат в современных препаратах иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) может быть 125 мкг (625 МЕ), 150 мкг (750 МЕ), 250 мкг (1250 МЕ), 300 мкг (1500 МЕ).

Методы непрямой геммагглютинации с использованием автоматизированных систем оценки результатов ИФА и проточной цитофлуориметрии для оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) представлены в Европейской фармакопее 9.0. В нашей стране указанные методы отсутствуют в структуре Государственной фармакопеи Российской Федерации и не внедрены на отечественных производствах иммунобиологических лекарственных средств [33].

Таким образом, разработка и внедрение отечественных методик количественного определения содержания антирезус Rh₀(D) IgG-Ат в препаратах иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) в соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к биоаналитическим методам испытаний, является перспективным направлением совершенствования качества указанной группы препаратов крови человека [34, 35].

Заключение

Препараты иммуноглобулина человека антирезус Rh₀(D) применяются для специфической перинаталь-

ной профилактики резус-иммунизации женщин с резус-отрицательной принадлежностью крови. Степень реализации фармакологического действия препаратов зависит от содержания в них специфических антирезус $Rh_0(D)$ IgG-Ат (анти-D-Ат), способных нейтрализовать резус-положительные эритроциты плода, попавшие в кровоток матери. Количественное определение содержания анти-D-Ат в МЕ активности или микрограммах в сравнении с МСО активности антирезус-иммуноглобулина инструментальными методами является необходимым условием получения качественных препаратов иммуноглобулина человека антирезус $Rh_0(D)$. Успехи в развитии иммунохимических методов исследований, молекулярно-генетических технологий, в частности создание моноклональных Ат, позволили

разработать в дополнении к традиционно используемому методу гемагглютинации новые альтернативные методы конкурентного ИФА и проточной цитофлуориметрии. В настоящее время специалисты ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России проводят экспериментальные исследования по разработке методик оценки специфической активности препаратов иммуноглобулина человека антирезус $Rh_0(D)$ с целью их внедрения в практику.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Кудашева Е.В., Климов В.И. **Сбор и обработка материала:** Шведова Е.В. **Написание текста:** Шведова Е.В., Кудашева Э.Ю. **Редактирование:** Климов В.И.

Литература

1. Савельева Г.М., Курцер М.А., Панина О.Б., Сичинава Л.Г., Клименко П.А., Конопляников А.Г., Алексеенкова М.В. Диагностика, лечение, профилактика гемолитической болезни плода при резус-сенситизации. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2006; 6: 73–8.
2. Scott M.L. The complexities of the Rh system. Vox Sang. 2004; 87: 58–62.
3. Резус-сенситизация. Гемолитическая болезнь плода. Клинические рекомендации. Письмо от 18 мая 2017 г. № 15-4/10/2-3300 МЗ РФ. М., 2017.
4. Guideline on the clinical investigation of human anti-D immunoglobulin for intravenous and/or intramuscular use: EMA/CPMP/BPWG/575/99, rev. 1 URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003334.pdf.
5. MacKenzie I.Z., Roseman F., Thompson K. The kinetics of routine antenatal prophylactic intramuscular injections of polyclonal anti-D immunoglobulin. BJOG. 2006; 113: 96–8.
6. Hannafin B., Lovecchio F., Blackburn P. Do Rh-negative women with first trimester spontaneous abortions need Rh immune globulin? Emerg. Med. J. 2006; 24: 487–90.
7. Connan K. IVIG – is it the answer? Maternal administration of immunoglobulin for severe red cell alloimmunization during pregnancy: a case series. Obstet. Anesth. Digest. 2011; 31 (1): 43–5.
8. Поляк Р., Катю Р., Каруш Ф. Иммуноглобулины. Москва : Мир, 1981. 495 с.
9. Фримель Х. Иммунологические методы. Москва : Мир, 1979. 518 с.
10. Givol D., Reisfeld R.A., Mandy W.J. Structural analysis of antibody combining site. In: Contemporary Topics in Molecular Immunology. Vol. 2. New York : Plenum Press, 1973: 27–50.
11. Хаитов Р.М. Иммунология : учебник. 2-е изд. Москва : Медицина, 2002: 536 с.
12. Донсков С.И. Группы крови системы Rhesus. Теория и практика. Москва : ВИНТИ и РАН, 2005: 392 с.
13. WHO: 28th report. Expert Committee on Biological Standardization. WHO Tech. Rep. Ser. 1977; 610: 29–31.
14. Paul E.B. Standardization of US reference Rho(D) immune globulin by quantitative automated hemagglutination. J. Biol. Stand. 1986; 14: 121–25.
15. Trope S.J., Sands D., Fox B., Behr-Gross M.-E. A global standard for anti-D immunoglobulin: international collaborative study to evaluate a candidate preparation. Vox Sang. 2003; 85 (4): 313–21.
16. Herbert W.J. Passive hemagglutination. In: D.M. Weir (ed.). Handbook of Experimental Immunology. Oxford; Edinburgh : Blackwell Scientific Publications, 1967.
17. Assay of Human Anti-D Immunoglobulin: European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg : Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe.
18. Донсков С.И. Экспрессия антигена D. В кн.: Группы крови человека : руководство по иммуносерологии. Москва : ИП Скороходов В.А., 2011: 1016 с.
19. Жибурт Е.Б. Иммунологические основы переливания крови. В кн.: Трансфузиология : учебник. Санкт-Петербург : Питер, 2002: 736 с.
20. Trope S.J., Sands D., Rautmann. International collaborative study to evaluate methods for quantification of anti-D in immunoglobulin preparations. Vox Sang. 2002; 83: 42–9.
21. Trope S.J., Fox B., Turner C. Competitive enzyme-linked immunoassay of monoclonal immunoglobulin G anti-D preparations. Transfus. Med. 2003; 13 (3): 209–12.
22. Dmitriev D.A., Massino Yu.S., Segal O.L. Kinetic analysis of interactions between bispecific monoclonal antibodies and immobilized antigens using a resonant mirror biosensor. J. Immunol. Methods. 2003; 280: 183–99.
23. Trope S.J., Fox B., Sands D. A stable lyophilized reagent for use in a potential reference assay for quantitation of anti-D in immunoglobulin products. Biologicals. 2002; 30: 315–21.
24. Schaffner G., Kayser T., Tonjes A. Validation of flow cytometry to quantify the potency of anti-D immunoglobulin preparations. Vox Sang. 2003; 84: 129–36.
25. Austin E.B., McIntosh Y., Hodson C. Anti-D quantitation by flow cytometry: an alternative to the Autoanalyzer? Transfus. Med. 1995; 5: 203–10.
26. Дубинкин И.В., Донсков С.И., Пискунова Т.М. Серологическая характеристика моноклональных антител к антигенам Rh-Hr, Kell. В кн.: Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины : материалы конференции. Киров, 2005: 156–7.
27. Трусов Г.А., Чапленко А.А., Семенова И.С. Применение проточной цитометрии для оценки качества биомедицинских клеточных продуктов. Биопрепараты. 2018; 18 (1): 16–4.
28. International collaborative study to calibrate proposed 3rd WHO International Standard for anti-D Immunoglobulin. WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO/BS/2018.2332 URL: https://www.who.int/biologicals/BS.2018.2332_3rd_IS_ANTI-D.pdf.
29. Манылова Н.А., Логинова И.И. Использование теста Клейхауэра–Бетке для выявления фето-материнской трансфузии и определение факторов риска развития анемии у новорожденных первой недели жизни. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2008; 7 (1): 142–4.
30. Манылова Н.А., Логвинова И.И., Крутских Е.Л., Карамова Л.Н., Гудкова А.Н. Исследование крови родильниц на фетальные эритроциты для диагностики фето-материнских трансфузий. В кн.: Материалы 2-й научно-практической конференции, посвященной 120-летию родильного дома № 10. Воронеж, 2008: 42–7.
31. Курцер М.А. Профилактика гемолитической болезни. Вестник РГМУ. 2008; 6: 43–7.
32. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of alloimmunization. ACOG Pract. Bull. 2006; 5.
33. Иммуноглобулины человека: ОФС 1.8.1.003.15. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Том II. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/1271/index.html.

34. Bioanalytical method validation guidance for industry. U.S. Biopharmaceutics, May 2018. URL: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.

35. Руководства ICH для фармацевтической отрасли. Качество. Береговых В.В. (ред.). Санкт-Петербург : Профессия, 2017: 768 с.

References

1. Savel'eva G.M., Kurtser M.A., Panina O.B., Sichinava L.G., Klimenko P.A., Konoplyannikov A.G., Alekseenkova M.V. Diagnosis, treatment, prevention of fetal hemolytic disease in RH-sensitization. Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii. 2006; 6: 73–8. (in Russian)
2. Scott M.L. The complexities of the Rh system. Vox Sang. 2004; 87: 58–62.
3. Rh-sensitization. Hemolytic disease of the fetus. Clinical recommendations. Letter dated 18 May 2017 No. 15-4/10/2-3300 Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow, 2017. (in Russian)
4. Guideline on the clinical investigation of human anti-D immunoglobulin for intravenous and/or intramuscular use: EMA/CPMP/BPWG/575/99, rev. 1 URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003334.pdf.
5. MacKenzie I.Z., Roseman F., Thompson K. The kinetics of routine antenatal prophylactic intramuscular injections of polyclonal anti-D immunoglobulin. BJOG. 2006; 113: 96–8.
6. Hannafin B., Lovecchio F., Blackburn P. Do Rh-negative women with first trimester spontaneous abortions need Rh immune globulin? Emerg. Med. J. 2006; 24: 487–90.
7. Connan K. IVIG – is it the answer? Maternal administration of immunoglobulin for severe red cell alloimmunization during pregnancy: a case series. Obstet. Anesth. Digest. 2011; 31 (1): 43–5.
8. Polyak R., Katu R., Karush F. Immunoglobulins. Moscow: Mir, 1981: 495 p. (in Russian)
9. Frimel' Kh. Immunological methods. Moscow: Mir, 1979: 518 p. (in Russian)
10. Givol D., Reisfeld R.A., Mandy W.J. Structural analysis of antibody combining site. In: Contemporary Topics in Molecular Immunology. Vol. 2. New York: Plenum Press, 1973: 27–50.
11. Khaitov R.M. Immunology: a textbook. 2nd ed. Moscow: Meditsina, 2002: 536 p. (in Russian)
12. Donskov S.I. Blood groups of the Rhesus system. Theory and practice. Moscow: VINIT i RAN, 2005: 392 p. (in Russian)
13. WHO: 28th report. Expert Committee on Biological Standardization. WHO Tech. Rep. Ser. 1977; 610: 29–31.
14. Paul E.B. Standardization of US reference Rho(D) immune globulin by quantitative automated hemagglutination. J. Biol. Stand. 1986; 14: 121–25.
15. Trope S.J., Sands D., Fox B., Behr-Gross M.-E. A global standard for anti-D immunoglobulin: international collaborative study to evaluate a candidate preparation. Vox Sang. 2003; 85 (4): 313–21.
16. Herbert W.J. Passive hemagglutination. In: D.M. Weir (ed.). Handbook of Experimental Immunology. Oxford; Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, 1967.
17. Assay of Human Anti-D Immunoglobulin: European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe.
18. Donskov S.I. D antigen expression. In: Human Blood Groups: a Guide to Immunoserology. Moscow: IP Skorokhodov V.A., 2011: 1016 p. (in Russian)
19. Zhiburt E.B. Immunological bases of blood transfusion. In: Transfusion: a textbook. Saint Petersburg: Piter, 2002: 736 p. (in Russian)
20. Trope S.J., Sands D., Rautmann. International collaborative study to evaluate methods for quantification of anti-D in immunoglobulin preparations. Vox Sang. 2002; 83: 42–9.
21. Trope S.J., Fox B., Turner C. Competitive enzyme-linked immunoassay of monoclonal immunoglobulin G anti-D preparations. Transfus. Med. 2003; 13 (3): 209–12.
22. Dmitriev D.A., Massino Yu.S., Segal O.L. Kinetic analysis of interactions between bispecific monoclonal antibodies and immobilized antigens using a resonant mirror biosensor. J. Immunol. Methods. 2003; 280: 183–99.
23. Trope S.J., Fox B., Sands D. A stable lyophilized reagent for use in a potential reference assay for quantitation of anti-D in immunoglobulin products. Biologicals. 2002; 30: 315–21.
24. Schaffner G., Kayser T., Tonjes A. Validation of flow cytometry to quantify the potency of anti-D immunoglobulin preparations. Vox Sang. 2003; 84: 129–36.
25. Austin E.B., McIntosh Y., Hodson C. Anti-D quantitation by flow cytometry: an alternative to the Autoanalyzer? Transfus. Med. 1995; 5: 203–10.
26. Dubinkin I.V., Donskov S.I., Piskunova T.M. Serological characteristics of monoclonal antibodies to Rh-Hr and Kell antigens. In: Materials of Transfusiology and Clinical Medicine Conference. Kirov, 2005: 156–7. (in Russian)
27. Trusov G.A., Chaplenko A.A., Semenova I.S. Use of flow cytometry to quality evaluation of biomedical cell products. Biopreparaty. 2018; 18 (1): 16–4. (in Russian)
28. International collaborative study to calibrate proposed 3rd WHO International Standard for anti-D Immunoglobulin. WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO/BS/2018.2332 URL: https://www.who.int/biologicals/BS.2018.2332_3rd_IS_ANTI-D.pdf.
29. Manylova N.A., Loginova I.I. Using the Kleihauer-Betke test in revealing of fetomaternal transfusion and determination of risk factors of anemia in newborns of the first week of life. Sistemnyi analys i upravlenie v biomeditsinskikh systemakh. 2008; 7 (1): 142–4. (in Russian)
30. Manylova N.A., Logvinova I.I., Krutskikh E.L., Karanova L.N., Gudkova A.N. The study of the blood of childbirth on fetal red blood cells for the diagnosis fetomaternal transfusion. In: Materials of the 2nd Scientific and Practical Conference Dedicated to the 120th Anniversary of Voronezh Hospital No. 10. Voronezh, 2008: 42–7. (in Russian)
31. Kurtser M.A. Prevention of hemolytic disease. Vestnik RGMU. 2008; 6: 43–7. (in Russian)
32. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of alloimmunization. ACOG Pract. Bull. 2006; 5.
33. Human immunoglobulin: GPA.1.8.1.003.15. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/1271/index.html. (in Russian)
34. Bioanalytical method validation guidance for industry. U.S. Biopharmaceutics, May 2018. URL: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>.
35. ICH guidelines for the pharmaceutical industry. Quality. In: Beregovykh V.V. (ed.). Saint Petersburg: Professiya, 2017: 768 p. (in Russian)