



Вирусная и бактериальная безопасность плазмы человека для фракционирования

Выполнили:

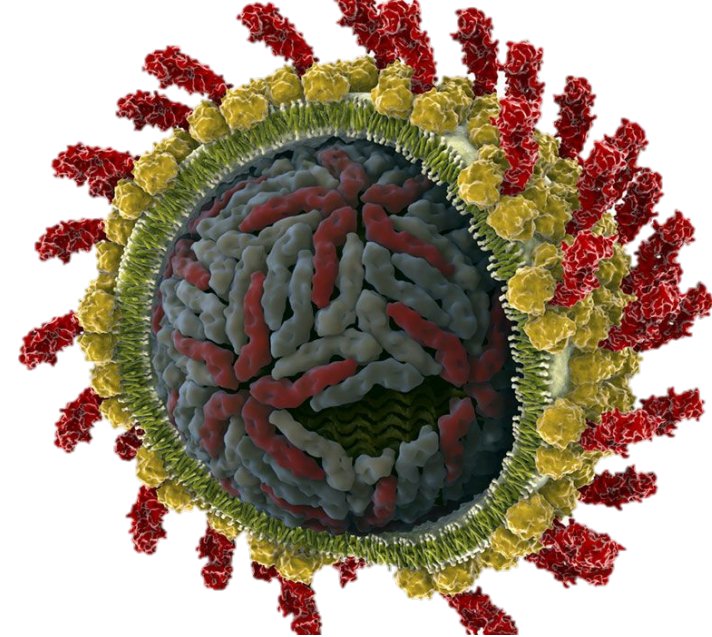
Студентки 3 курса 2 группы педиатрического факультета

Борычева Анастасия Романовна и Морозова Алина

Вадимовна

АКТУАЛЬНОСТЬ

- Медицинские препараты (препараты комплексного действия, иммуноглобулины и гемостатические препараты) из крови могут представлять **угрозу для здоровья человека**, потому что кроме БАВ могут содержать микроорганизмы



- Микроорганизмы размножаются, остаются клинически не распознанными.
- Поскольку кровь является сырьем, актуальным остаётся вопрос изготовления безопасных ИБП.

ПРОИЗВОДСТВО

- Для производства препаратов крови человека используется плазма крови здоровых доноров, соответствующая требованиям ФС «Плазма человека для фракционирования».
- Доноры крови и плазма крови должны проходить обследование в соответствии с действующими нормативными правовыми документами.
- Каждая индивидуальная порция плазмы должна контролироваться на отсутствие маркеров инфекций, переносимых при гемотрансфузиях.
- Для заготовки плазмы крови необходимо использование гемоконсервантов.



ПРОИЗВОДСТВО

- Производство должно гарантировать сохранение структуры и функции белков крови, обеспечивать специфическую и вирусную безопасность препаратов и исключать контаминацию чужеродными агентами.
- Для предотвращения попадания вирусов в готовые лекарственные формы предусматривается введение в технологию производства нескольких стадий вирусной инактивации и/или элиминации вирусов, для которых доказано снижение концентрации модельных вирусов.



ИНДИВИДУАЛЬНАЯ ЕДИНИЦА ПЛАЗМЫ

Перед формированием производственного пула (загрузки) индивидуальные единицы плазмы объединяют для проведения испытаний по показателям. При производстве препаратов крови производственный пул плазмы обязательно тестируют:

- на антиген ВИЧ p24;
- антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2;
- на антитела к вирусу гепатита С;
- поверхностный антиген вируса гепатит
- возбудитель сифилиса.

Методами иммуноферментного анализа.

- На наличие нуклеиновых кислот ВИЧ;
- Вирусов гепатитов В и С;

Методом полимеразной цепной реакции.



ПРОЦЕССЫ ВИРУСНОЙ ИНАКТИВАЦИИ ИЛИ ЭЛИМИНАЦИИ

При необходимости вирусной элиминации и (или) инактивации, исходное сырье и материалы подвергаются обработке следующими методами:

- **физическими** (стерилизация, в том числе пастеризация, обработка паром, сухой нагрев, либо радиация, фильтрация),
- **химическими** (разрушение липидной оболочки вирусов с помощью детергентов),
- **комбинированными** (нейтрализация со специфическими антителами, удаление вирусов хроматографическими методами, нагревание в форме суспензии с химическими агентами и другими).

Любой из используемых методов обработки должен быть валидирован и обладать свойством демонстрации значительного снижения риска случайного вирусного загрязнения, связанного с исходным состоянием сырья.

Способы, используемые для инактивации вирусов в препаратах крови

Способ	Суть способа	Ограничения способа
Пастеризация жидкого продукта	Нагревание продукта при температуре 60 С в жидком состоянии 10–12 ч	Риск заражения вирусами гепатитов В и С существует при использовании пастеризованных концентратов; необходимость использования больших концентраций протекторов, в основном углеводов с различными добавками, для защиты лабильных белков плазмы от денатурации. Одновременно они стабилизируют и вирусы
Химическая инактивация вируса в жидком продукте	Основан на способности химических веществ разрушать липидную оболочку вирусов. Использование растворителей (solvent-detergent method; SD-метод) для удаления липидной оболочки	Применение ограничено из-за лабильности белков плазмы крови. Способ применим для инактивации вирусов, имеющих липидную оболочку. Малоэффективен для инактивации вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию. SD метод запрещен в США из-за ассоциации с развитием у отдельных пациентов тромбозов. Может приводить к снижению биологической активности препарата и к образованию аутоантител. Например, метод, использующий метиленовую синь, снижал активность фибриногена на 65%; фактора свертывания крови VIII на 67%

Способы, используемые для инактивации вирусов в препаратах крови

Способ	Суть способа	Ограничения способа
Химическая обработка + ультрафильтрация продукта	Присоединение к химической обработке метода ультрафильтрации	Необходимость удаления продуктов распада вирусов требует введение дополнительных этапов очистки препарата крови.
Ультрафиолет + химические вещества	Плазму и ее препараты подвергают облучению светом в ультрафиолетовом диапазоне в присутствии малых концентраций химических веществ – красителей (метиленовый синий и др.)	Способ применим для инактивации вирусов, имеющих липидную оболочку. Мало- эффективен для инактивации вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию. Удаление продуктов распада вирусов требует дополнительных этапов. Возможна частичная денатурация терапевтических белков и образование к ним аутоантител.
Обработка лиофилизата паром	Ллиофилизат подвергают обработке горячим паром в закрытой системе, заполненной инертным газом под давлением в течение 1–10 ч.	В некоторых препаратах обнаруживали вирус гепатита В.

Способы, используемые для инактивации вирусов в препаратах крови

Способ	Суть способа	Ограничения способа
Сухой прогрев лиофилизата	Инактивация вирусов происходит при нагреве лиофилизата при температуре 68 С в течение 32–60 ч	В концентрированных негомогенных препаратах сохранялись вирусы гепатитов В, С и ВИЧ
Жесткая термообработка лиофилизата	Прогрев до температуры 80 С в течение 72 ч	Требуются протекторы, возможна частичная денатурация белков. Возможно сохранение в препарате вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию
Хроматография (гельфилтрация, аффинная и ионообменная хроматография)	Разделение происходит в результате межмолекулярного взаимодействия белков оболочки вируса с сорбентом	Хроматографические способы малоэффективны при удалении безоболочечных вирусов. Обычно их применяют для получения из плазмы крови минорных белков

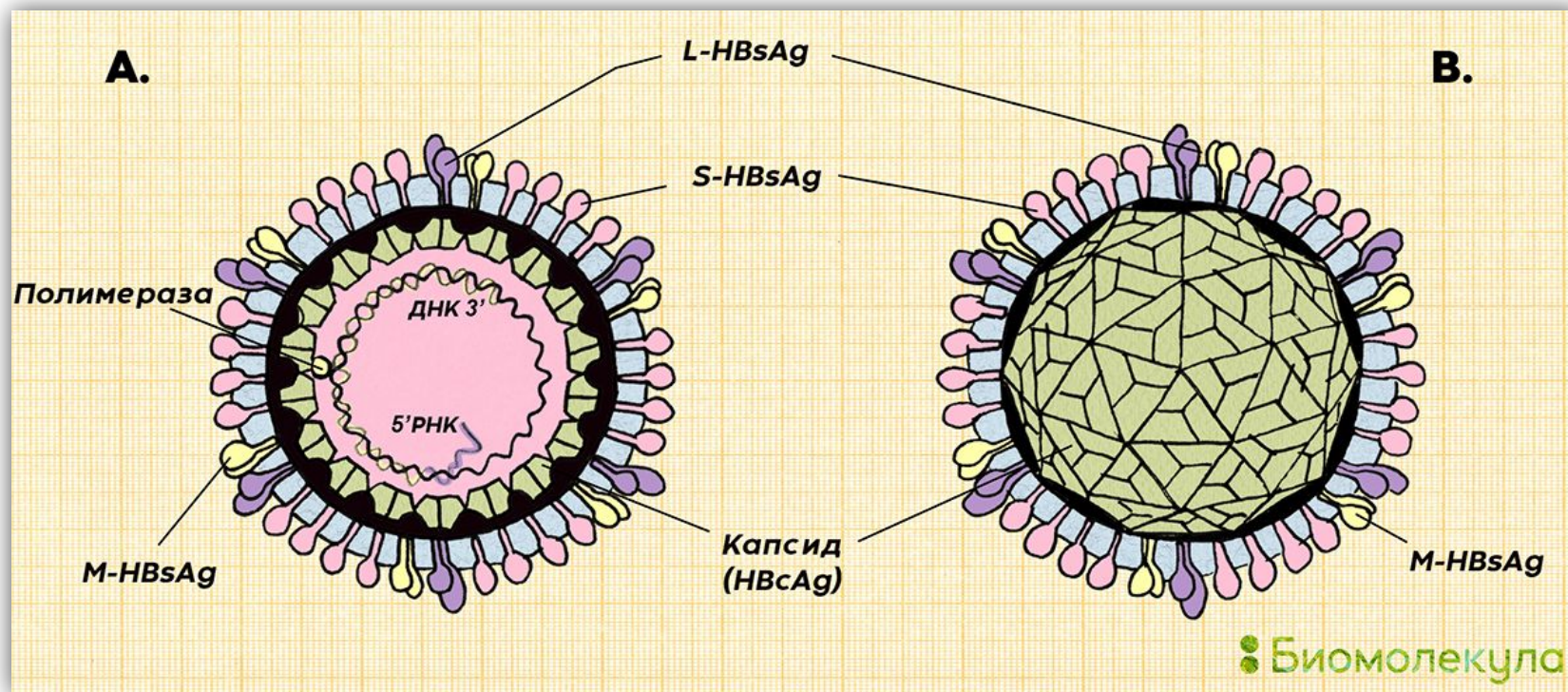
Способы, используемые для инактивации вирусов в препаратах крови

Способ	Суть способа	Ограничения способа
Ультрафильтрация	Механическое отделение вирусов за счет их больших размеров, чем у белков плазмы. Способ эффективен для удаления оболочечных и безоболочечных вирусов. Фильтры с размером пор 15–20 нм позволяют отделить вирус гепатита А и вирус В19 от фактора IX	Используется как этап многостадийных методов очистки крови от вирусов. Размеры частиц вируса, вызывающего гепатит А, находятся в пределах 25–30 нм; вируса В19 – в пределах 18–26 нм; вируса, вызывающего гепатит С, 28–30 нм; размеры вирусов герпетического семейства в пределах 120-300 нм; капсид ВИЧ – 100–120 нм
Ультракороткие импульсы лазерного излучения (длина волны 425 нм)	Разрушение вирусов в жидкой среде. Способ эффективен для удаления оболочечных и безоболочечных вирусов	Нет данных

ВИРУСНАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Поверхностный антиген (HBsAg) и нуклеиновая кислота вируса гепатита В

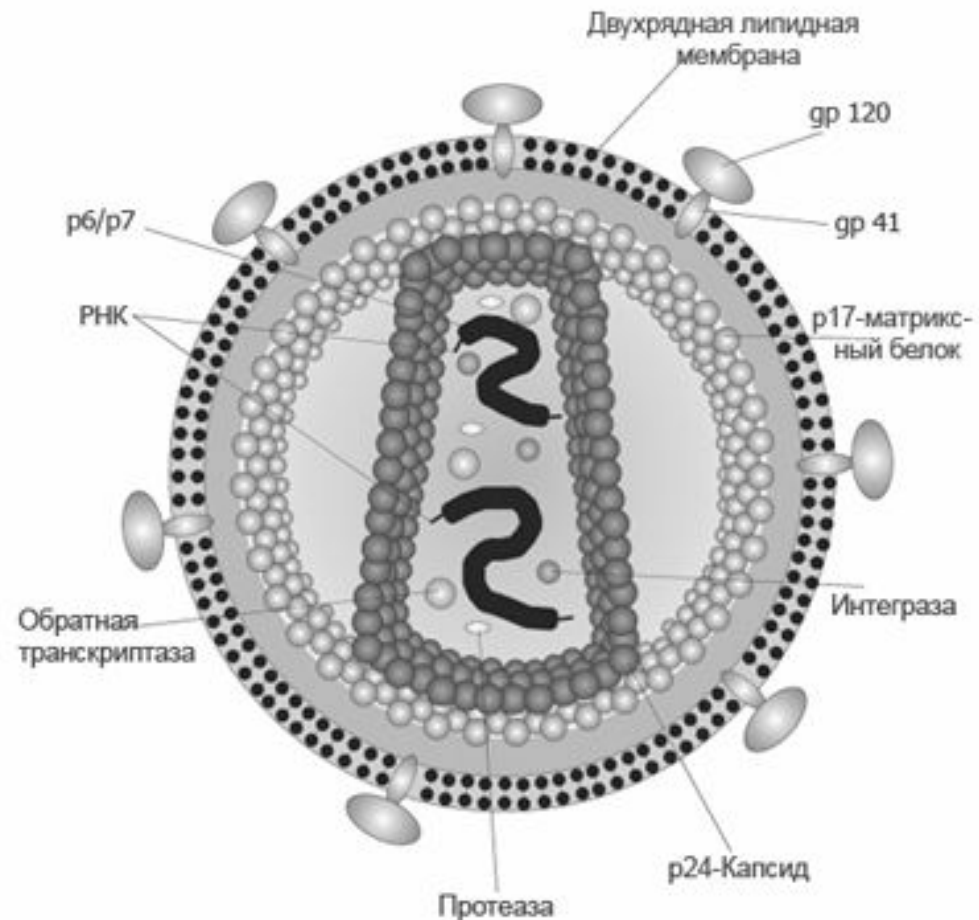
- **Должны отсутствовать.**



ВИРУСНАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

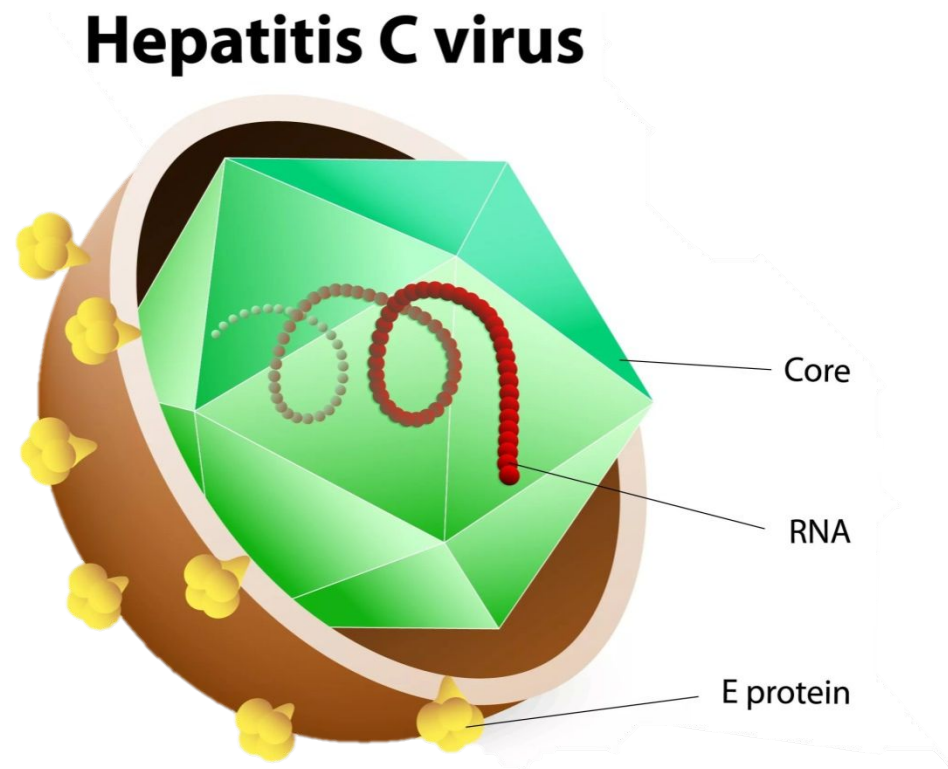
Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2) и нуклеиновая кислота вируса иммунодефицита человека

- Должны отсутствовать.



ВИРУСНАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

- Антитела к вирусу гепатита С и нуклеиновая кислота вируса гепатита С
- **Должны отсутствовать.**



ВИРУСНАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Антитела к возбудителю
сифилиса

- **Должны отсутствовать.**



Характеристика требований российских и международных (Европейской фармакопеи) стандартов качества

Индивидуальная доза плазмы		
HBsAg	Не должна содержать	Не должна содержать
Антитела к ВИЧ 1 и ВИЧ 2	Не должна содержать	Не должна содержать
Антиген ВИЧ p24	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен
Антитела к HCV	Не должна содержать	Не должна содержать
Антитела к возбудителю сифилиса	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен
ДНК HBV	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен
РНК HCV	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен
РНК HIV I, II	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен

Характеристика требований российских и международных (Европейской фармакопеи) стандартов качества

РНК HIV I, II	Не должна содержать	Контроль не предусмотрен
Пулированная плазма		
HBsAg	Не должен содержать	Не должен содержать
Антитела к ВИЧ 1 и ВИЧ 2	Не должен содержать	Не должен содержать
Антиген ВИЧ p24	Не должен содержать	Контроль не предусмотрен
Антитела к HCV	Не должен содержать	Контроль не предусмотрен
Антитела к возбудителю сифилиса	Не должен содержать	Контроль не предусмотрен
ДНК HBV	Не должен содержать	Контроль не предусмотрен
РНК HCV	Не должен содержать	Не должен содержать
РНК HIV I, II	Не должен содержать	Контроль не предусмотрен

ЗАКЛЮЧЕНИ

Таким образом, нужно уделять особое внимание оценке рисков вирусной контаминации и очистке от вирусов продукта, используя следующие стратегии:

- **А. Тщательное описание/скрининг исходного материала** клеточного субстрата на предмет наличия вирусных контаминантов;
- **В. Оценку риска** путем выявления контаминантов, тропных к организму человека;
- **С. Внедрение надлежащей программы испытаний** на посторонние вирусы в необработанном продукте;
- **Д. Детальное планирование исследований очистки от вирусов**, используя различные методы инактивации или элиминации вирусов в одном и том же процессе производства с целью достижения максимальной очистки от вирусов;
- **Е. Проведение исследований**, направленных на анализ инактивации и элиминации вирусов.



**Спасибо за
внимание!**