

Е.Б.ЖИБУРТ, проф., Центр крови Минздравсоцразвития РФ

Пути повышения качества отечественных

ПРЕПАРАТОВ КРОВИ

Ключевое требование к лечебному применению препаратов, приготовленных из донорской крови, — вирусная безопасность. Несмотря на впечатляющие достижения в области отбора и обследования доноров крови, повышение качества диагностических тест-систем, сохраняется риск заготовки крови от лиц с отсутствием клинико-лабораторных признаков гемотрансмиссивных инфекций, в серонегативном периоде [1]. Для получения серии лечебных доз препаратов крови необходимой стадией является пулирование нескольких сотен или тысяч образцов донорской крови, и чем больше размер пула, тем больше повышается риск инфекционной контаминации конечного продукта.

За рубежом внедрены в практику и интенсивно развиваются технологии инактивации вирусов в плазме и продуктах ее переработки: метод «растворитель/детергент», фотодинамическая и фотохимическая инактивация в плазме, концентратах тромбоцитов и эритроцитов.

Метод «растворитель/детергент» (Solvent/Detergent, SD) лицензирован для обработки концентратов факторов свертывания в США в 1985 г. Суть метода заключается в инкубации пулов плазмы с органическим растворителем три(п-бутил)фосфат (TNBP) и детергентом Тритон X-100. При SD-обработке разрывается оболочка вирусов, содержащая липиды, и инфекционность вирусов (ВИЧ, ВГВ, ВГС и др.) утрачивается. Безопасность таких продуктов обеспечивается, с одной стороны, за счет элиминации покрытых оболочкой вирусов, а с другой — за счет сохранения в пуле нейтрализующих антител к вирусу гепатита А и парвовирусу В19 — двум безоболочечным гемотрансмиссивным вирусам. В течение 13 лет использовано более 35 млн. доз концентратов факторов свертывания и иммуноглобулинов, приготовленных с использованием SD-технологии. Случаев передачи покрытых оболочкой вирусов и токсических реакций не зарегистрировано. Дополнительные гарантии

чистоты продукта обеспечиваются четкой связью в производственном процессе этапов экстракции, хроматографии и фильтрации.

Для каждой технологии получения препаратов крови предусмотрена процедура подтверждения эффективности инактивации вируса методом моделирования контаминации сырья различными вирусами [12].

Например, новая технология производства иммуноглобулина для внутривенного введения на основе хроматографии и использования каприлата для инактивации оболочечных вирусов (Bayer Healthcare, США) валидируется с использованием шести вирусов (табл. 2).

Внедрение в производство высокоочищенного концентрата фактора IX в Bio Products Laboratory (Великобритания) предполагает валидированный этап SD-обработки протромбинового комплекса (табл. 3). В России валидация вирус-инактивации препаратов крови методом моделирования вирусной контаминации исходного сырья еще не внедрена. Существующие нормативные документы (Отраслевой стандарт

ТАБЛИЦА 1 Основные препараты плазмы крови

Препарат	Показание
Альбумин 5%	Восстановление объема циркулирующей плазмы
Альбумин 20%	Гипоальбуминемия, отеки
Протеин	Восстановление объема циркулирующей плазмы
Фактор VIII	Гемофилия А, болезнь Виллебранда
Протромбиновый комплекс	Гемофилия В, кровотечение при передозировке кумаринов и болезнях печени
Фактор IX	Гемофилия В
Фактор XI	Врожденный дефицит
Фактор XIII	Врожденный дефицит
Фибриноген	Врожденный дефицит, ДВС при низком уровне фибриногена
Протеин С	Врожденный дефицит
Антитромбин III	Врожденный дефицит
Нормальный иммуноглобулин	Первичный и вторичный дефицит антител; некоторые аутоиммунные/воспалительные заболевания
Гипериммунный иммуноглобулин	Пассивная профилактика
C1 ингибитор	Наследственный ангионевротический отек
Альфа1-антитрипсин	Врожденный дефицит
Холинэстераза	Врожденный дефицит
Фибринолизин	Растворение внутрисосудистых сгустков
Гаптоглобин	Поддерживающая терапия при вирусном гепатите и пернициозной анемии

ТАБЛИЦА 2 Характеристики вирусов, использующихся для валидации вирус-инактивации иммуноглобулина для внутривенного введения [13]

Характеристика	ВИЧ	BVDV	PRV	Рео	ВГА	РРV
Модель вируса	ВИЧ-1, ВИЧ-2	ВГС	ЦМВ, ВЭБ, HSV, ВГВ	Безоболочечные вирусы	ВГА	Парвовирус В19
Штамм	(III В)	Кентукки-23	PRV dL tk	Abney	HM175 18f	NADL-2
Нуклеиновая кислота	РНК	РНК	ДНК	РНК	РНК	ДНК
Оболочка	Есть	Есть	Есть	Нет	Нет	Нет
Размер (нм)	80–130	40–60	120–220	60–80	27–32	18–26
Устойчивость к физико-химическим агентам	Низкая	Средняя	Средняя	Высокая	Высокая	Очень высокая

СОКРАЩЕНИЯ: BVDV - bovine viral diarrhea virus, вирус бычьей вирусной диареи; PRV - pseudorabies virus, вирус псевдобешенства; Рео - реовирус; ВГА - вирус гепатита А; РРV - porcine parvovirus, свиной парвовирус; HSV - herpes simplex virus, вирус простого герпеса.

ОСТ 91500.05.001.00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», утвержденный приказом Минздрава России от 1 ноября 2001 г. №388) предусматривают включение в Перечень разделов фармакопейных статей и фармакопейных статей на лекарственные средства конкретных предпри-

ятий-производителей лекарственных средств по разделу «XV. Препараты крови человека» пункта «Испытание на отсутствие антигенов (антител) вирусов гепатита, иммунодефицита человека, других возможных контаминантов крови человека». Очевидно, что такое испытание должно проводиться в отно-

шении сырья, а не готового препарата. Традиционно серологические маркеры гемотрансмиссивных инфекций исследуются методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови доноров. Для других целей соответствующие тест-системы не предназначены. Поиск маркеров иммунного ответа организма в

готовой лекарственной форме также не может принести значимой информации.

Во-первых, препарат крови – лекарственное средство, содержащее химически модифицированные нативные белки и стабилизаторы. В процессе производства белки плазмы подвергаются обработке пептидазами, плазмином, кислотами, пропиолактоном и т.д. [11]. Во-вторых, специфические диагностикумы для серологических маркеров инфекций разработаны именно для крови (плазмы, сыворотки) с учетом, в частности, ее физико-химических свойств (вязкости, pH и т.д.). Для практики иммуноферментного анализа принципиально важно то, что результат скрининга маркеров гемотрансмиссивных инфекций не является окончательным и нуждается в обязательном подтверждении. В отношении крови как диагностического объекта разработана система подтверждающих методов, система верификации результатов скрининга, позволяющая определить чувствительность и специфичность диагностикумов.

В отношении ВИЧ-инфекции специальными диагностикумами проводится подтверждение результатов и арбитраж первичных исследований сывороток крови, а для постановки окончательного лабораторного диагноза и подтверждения наличия антител к вирусу иммунодефицита человека применяется метод иммунного блота [5].

Для проведения анализа по подтверждению наличия HBsAg и анти-VГС необходимо использовать конфирматорные тест-системы. Постановка окончательного лабораторного диагноза без подтверждения в одном из конфирматорных тестов запрещается [6].

Использование предназначенных для крови тест-систем в отношении другого объекта бессмысленно, т. к. неизбежно приведет к ложноположительным или ложноотрицательным результатам, верифицировать которые невозможно. Тем не менее посерийный контроль ка-

ТАБЛИЦА 3 Инактивация модельных вирусов при обработке «растворитель/детергент» промежуточного продукта получения концентрата фактора IX [13]

Вирус	Инактивация вирусов (log) * в различные моменты обработки			
	2 мин.	10 мин.	30 мин.	1 ч.
Синдбис	0,8	2,0	4,0	5,4
SFV	0,5	1,5	3,0	4,1
HSV-1	2,8	5,6	> 5,6	Н0
VSV	Н0	3,2	4,1	> 5,0
ВИЧ-1	5,3	5,8	6,3	Н0

СОКРАЩЕНИЯ: SFV – вирус Semliki Forest; HSV-1 – вирус простого герпеса, тип 1; VSV – вирус везикулярного стоматита; Н0 – не определен.
* Инкубация в отсутствие обработки «растворитель/детергент» завершилась инактивацией менее 0,4 log после 1 ч.

чества препаратов крови предписывается проводить с обязательным тестированием препаратов крови на отсутствие антител к ВИЧ, вирусу гепатита С, поверхностного антигена вируса гепатита В [3].

Логичным развитием неверно заданной идеи поиска серологических маркеров в готовых препаратах крови становится необходимость валидации тест-систем (вовсе не предназначенных для этой задачи). При этом констатируется необходимость посерийной валидации наборов для каждого вида лекарственных средств [2].

Некорректность вышеуказанных регламентированных исследований обуславливает их ничтожность, ведет к напрасным трудозатратам, материальным издержкам и дискредитирует профессионализм специалистов [10].

Сохранение надуманной процедуры подменяет внедрение современных методов обеспечения инфекционной безопасности препаратов крови.

Реализация решений органов государственной власти России о строительстве современных производств фракционирования плазмы [4, 8] требует от специалистов совершенствования системы обеспечения качества препаратов крови с тем, чтобы продукция российских пред-

приятий отвечала мировым стандартам безопасности и эффективности.

Таким образом, для производителей препаратов крови в России актуальны следующие задачи:

- 1) отмена требования обязательного тестирования препаратов крови на отсутствие антител к ВИЧ и вирусу гепатита С, поверхностного антигена вируса гепатита В при контроле качества препаратов крови – в силу биологической нецелесообразности этой процедуры, отсутствующей в мировой практике;
- 2) внедрение в практику переработки плазмы методов вирус-инактивации;
- 3) создание специального центра по оценке эффективности применяемых производителями препаратов крови методов инактивации вирусов;
- 4) внедрение методов генотестирования ВИЧ, вирусов гепатитов В и С для контроля качества пулов донорских сывороток, использующихся для производства препаратов [9].