

Производство иммунобиологических лекарственных препаратов

Выполнила : Салиева М. В , 224 гр
Руководитель : Батурлина С. Н




Цель:

Познакомиться с производством иммунобиологических лекарственных препаратов (ИБЛП)

Задачи:

- 1) Изучить специальную литературу по теме.**
- 2) Рассмотреть особенности производства ИБЛП.**
- 3) Познакомиться с последним этапом производства – испытанием ИБЛП**



Принципы и задачи биотехнологического получения медицинских иммунобиологических препаратов


Биотехнология относится к такой области знаний, где наиболее тесно взаимодействуют достижения науки и промышленное производство. Биотехнологическая промышленность основана на нескольких принципах:

брожении (ферментации)

биоконверсии – превращении одного вещества в другое

генетических манипуляциях и **культивировании** клеток различного происхождения.

Для медицинской биотехнологии, а более конкретно, для получения иммунобиологических препаратов – вакцин, антител, диагностикумов, эубиотиков, бактериофагов – наибольшее значение имеют два последних из указанных выше принципов.



При получении конечного продукта, будь то вакцина, профилактический бактериофаг или диагностикум, необходимо выполнение схемы производственного процесса, состоящего из нескольких основных стадий.


1) Первая стадия заключается в выборе производственного штамма клеток, который должен быть генетически стабильным и высоко продуктивным.

2) Вторая стадия – это подбор питательной среды для культивирования производственного штамма клеток. Основные требования к среде – адекватность и простота.

3) Третья стадия – культивирование клеток-продуцентов, при этом могут быть использованы традиционные консервативные методы и автоматически управляемые процессы крупномасштабного культивирования с применением биореакторов типа хемо- или турбостатов.

4) Последняя, четвёртая, стадия состоит в выделении целевого конечного продукта, его очистки и концентрации, контроле, превращении в товарную форму.

Такие приёмы и методы применяются для старой, традиционной биотехнологии. Так называемая новая, генно-инженерная, биотехнология, напрямую связана с генетическими манипуляциями которые заключаются в обмене генами (рекомбинациями) между двумя разными хромосомами, в результате чего возникают клетки или организмы с двумя или несколькими наследственными генами, по которым партнёры-родители различались между собой.



Современная биотехнологическая промышленность располагает научно-исследовательскими институтами, опытно-конструкторскими предприятиями, крупными биофабриками и заводами, где ежегодно производится множество иммунобиологических препаратов профилактической, лечебной и диагностической направленности. Тем не менее, далеко не все потребности в этих продуктах удовлетворены в полной мере и развитию биотехнологии уделяется большое внимание.

Производство ИЛП отличается сложностью и многообразием технологических процессов и должно осуществляться в условиях соблюдения надлежащих требований организации производства и контроля качества лекарственных средств.

При изменениях производственного процесса, введении нового регламента или способа производства, оказывающих влияние на качество ИЛП и/или стабильность и воспроизводимость процесса, представляются доказательства их пригодности для серийного производства и материалы по валидации.

Производство и качество

Качество ИЛП обеспечивается следующими основными условиями:

- 1) в производстве используют только изученные, генетически стабильные производственные штаммы микробов
- 2) используют адекватные питательные среды, обладающие высокими ростовыми свойствами;
- 3) используют культуры клеток, в соответствии с рекомендациями ВОЗ , депонированные в официальных коллекциях и разрешенные к использованию для производства (при культивировании клеток не допускается использование нативной сыворотки крови человека, а также антибиотиков группы пенициллина!);
- 4) животные и птицы, используемые для производства ИЛП, получают только из хозяйств, благополучных в отношении бактериальных, вирусных, прионных и др. болезней, опасных для человека;
- 5) при производстве ИЛП из плазмы и клеток крови и органов человека должны соблюдаться требования, предъявляемые к состоянию здоровья донора;

Герметизация и наличие вакуума

Герметизацию ампул и флаконов определяют физическим методом.

Флаконы и ампулы с препаратом помещают в кассету и погружают в емкость, заполненную водой очищенной, подкрашенной раствором метиленовой сини.

Емкость закрывают крышкой, создают избыточное давление ($0,7 \pm 0,05$ МПа) и выдерживают 1-3 мин. Затем устанавливают атмосферное давление, емкость открывают, вынимают кассету с образцами и просматривают на наличие во флаконах воды, подкрашенной раствором метиленовой сини. Образцы, содержащие подкрашенную воду, бракуют.

Наличие вакуума в ампулах определяется визуально по цвету свечения газовой среды.

При контроле качества герметизации ампул под вакуумом определяющим параметром является давление воздуха в ампулах.

Допустимыми величинами являются:

Давление порядка 10 Па—1 кПа.

Частота электрических колебаний составляет от 20 до 50 кГц

И напряжение - от 15 до 20 кВ.

Получение вакцин

Получение живых вакцин:

культивирование вакцинного штамма в производственных условиях (бактерийные штаммы культивируют на питательных средах, вирусные — на куриных эмбрионах или в культурах клеток);
очистка вакцинного штамма от балластных веществ (питательной среды, культуры клеток и т. д. ;
стандартизация (определение активности, доведение до рабочей концентрации, расфасовка в ампулы);
лиофилизация со стабилизатором (альбумин, сахароза с желатиной);
контроль: концентрации живых бактерий или вирусов вакцинного штамма, остаточной влажности, безвредности, аллергенности, иммуногенности и др.

Получение убитых вакцин:

культивирование вакцинного штамма;
инактивация (чаще 0, 4 % формальдегидом при 37— 40 ОС в течение 4 нед);
очистка от балластных компонентов;
добавление адьюванта;
стандартизация ;
лиофилизация;
контроль: остаточной вирулентности, содержание бактерий или вирусов вакцинного штамма, остаточной влажности, стерильности, безвредности, аллергенности, иммуногенности и др. и п

Получение сывороток

Иммунные сыворотки

- **Антитоксические сыворотки.**
- **Гетерологичные сыворотки** готовят путем гипериммунизации крупных животных (**лошадей**, волов).
- **Принцип получения:**
 - лошадей **гипериммунизируют** (многократно вводят большие дозы АГ по разработанной схеме);
 - на пике антителообразования у животных забирают кровь, освобождают ее от клеток и фибрина;
 - сыворотки очищают и концентрируют ферментативным способом в сочетании с диализом (метод «**Диаферм**»), осаждением спиртом на холоде, хроматографией или иными способами;
 - стандартизируют по концентрации АТ (антитоксинов) и контролируют.



Получение сывороток

Диагностические сыворотки

- Диагностические сыворотки применяются для выявления АГ возбудителей в клиническом материале и для определения вида или типа возбудителя (**серологическая идентификация микроорганизмов**).
- **Получение:** иммунизация животных (кроликов) соответствующими АГ.
- Из крови получают сыворотку, добавляют консервант, контролируют стерильность, специфичность, высоту титра и при необходимости лиофилизируют.
- Люминесцентные сыворотки готовят из специфических иммунных сывороток, из них извлекают глобулиновую фракцию и обрабатывают **флюорохромами**.

Получение пробиотиков, эубиотиков

Схема производства бифидумбактерина

Приготовление питательной среды (среда Блаурокка, гидролизатно-молочная или гидролизатно-дрожжевая)

Выращивание посевного материала I и II генерации

Культивирование в биореакторах

Сублимационное высушивание

Маркировка, упаковка

Контроль готового препарата

Схема производства лактобактерина

Приготовление питательной среды

Подготовка посевного материала

Культивирование микроорганизмов (2 суток)

Выделение и концентрирование лактобактерий

Лиофильное высушивание

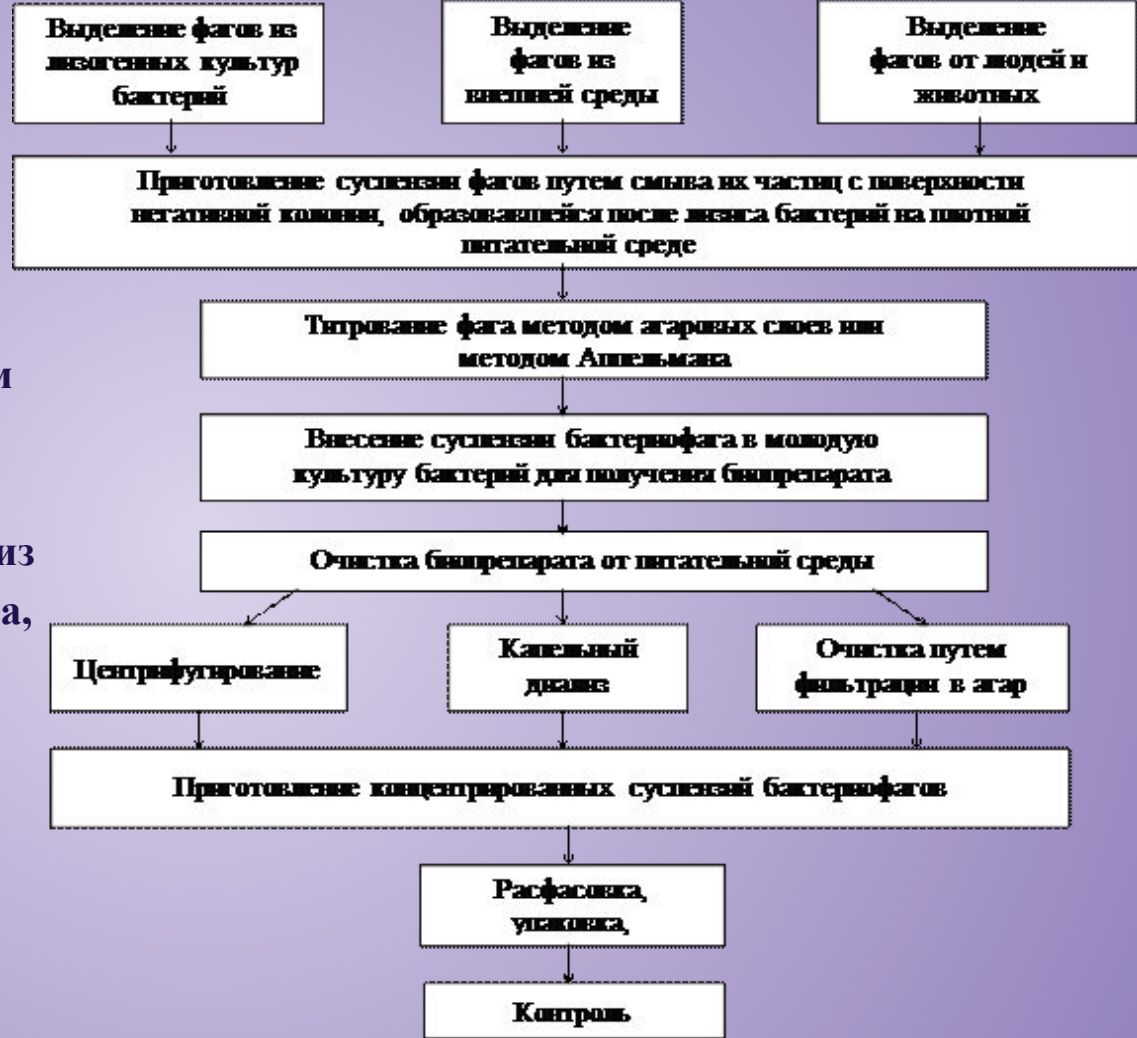
Придание готовой лекарственной формы

Фасовка, упаковка, этикетирование

Контроль готовой продукции

Получение бактериофагов

БАКТЕРИОФАГИ получают путём культивирования пораженных бактериофагом бактерий на питательных средах с выделением из культуральной жидкости фильтрата, содержащего фаги. Активность препарата определяют путём титрования на чувствительных к нему культурах бактерий.



Получение аллергенов (А)

Для диагностики и лечения аллергических заболеваний из экзогенных А. готовят препараты, которые также получили название «аллергены».

Общий принцип их приготовления:

Из сложных по составу продуктов готовят водно-солевые экстракты. Экстрагирующей жидкостью обычно служит раствор хлористого натрия, стабилизированный фосфатным буфером с $\text{pH} = 7,0 — 7,2$ с добавлением 0,4% раствора фенола. А. из простых хим. веществ готовят, разводя их в различных растворителях. Полученные экстракты освобождают от взвешенных частиц фильтрованием или центрифугированием. Далее фильтрат или надосадочную жидкость стерилизуют фильтрованием через фильтр Зейтца. Полученный таким образом фильтрат (аллерген) проверяют на стерильность, безвредность и специфичность. Для проверки на стерильность вносят по 0,5 мл экстракта на различные питательные среды и следят за посевами 8 дней. Стерильный экстракт разливают в инсулиновые флаконы и снова проверяют его на стерильность. Следующий этап — проверка на безвредность, для чего экстракт вводят белым мышам. Если мыши остаются живыми в течение 4 дней, А. считается безвредным.

Специфичность проверяют на здоровых и чувствительных к данному А. людях. У здоровых лиц А. должен давать отрицательную кожную пробу, а у больных — положительную

Приготовление диагностикумов, антигенов

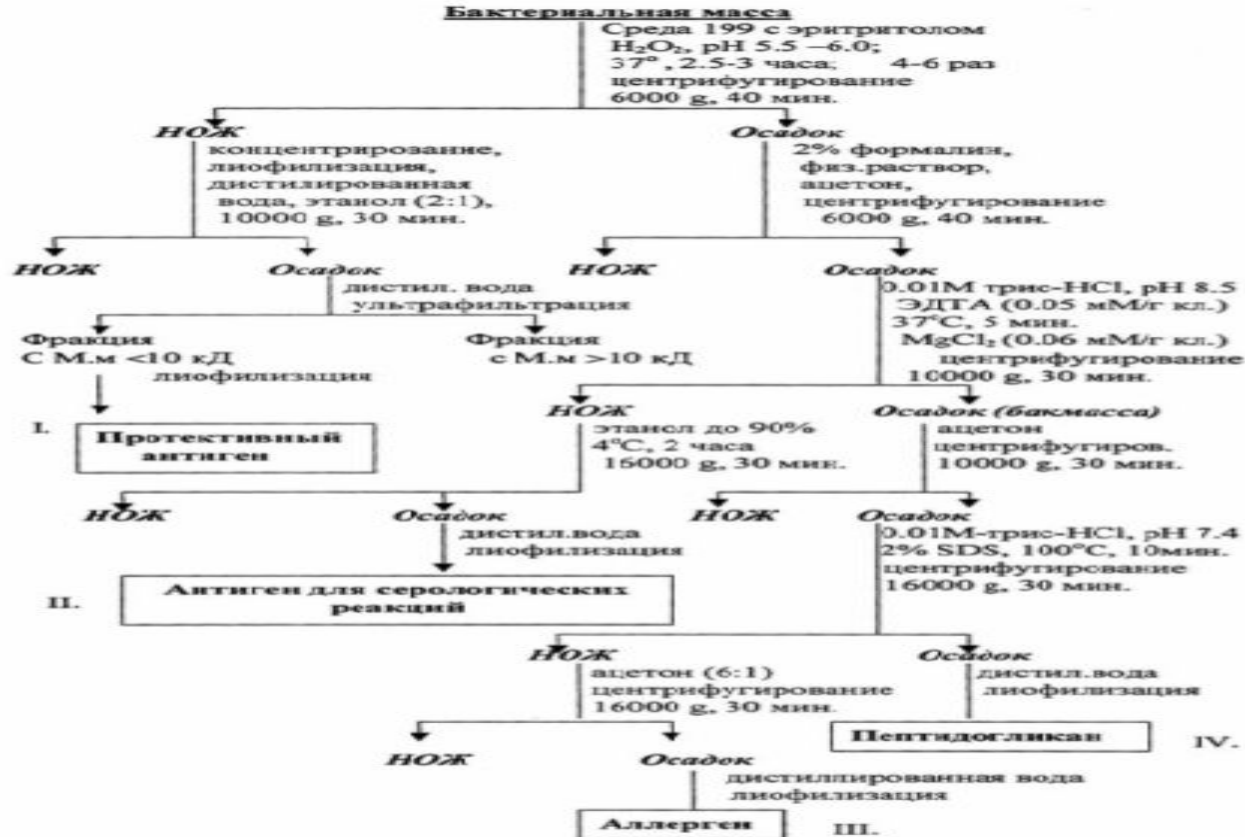


Рис. Схема поэтапного фракционирования клеток бруцелл для выделения антигенов (НОЖ – надосадочная жидкость)

Приготовление эритроцитарного диагностикума



Испытания- методики, используемые для проведения испытаний, должны быть описаны максимально подробно с указанием квалификации реактивов, реагентов, лабораторного оборудования, приборов, требований к животным, штаммам микробов и культур клеток и т.д. Требования к чувствительности методов испытаний ИЛП и результатам исследований должны соответствовать рекомендациям ВОЗ

Описание	Извлекаемый объем.	Бактериальные эндотоксины.	Вирусная безопасность.
Подлинность.	Потеря в массе при высушивании или Вода.	Аномальная токсичность.	Производственные штаммы микроорганизмов и штаммы для контроля.
Прозрачность.	Средняя масса и отклонения от средней массы	Специфическая безопасность.	Растворители
Цветность.	Стерильность.	Специфическая безвредность.	Упаковка.
Механические включения.	Микоплазмы.	Специфическая активность.	Маркировка.
Время восстановления препарата (для лиофилизатов или порошков).	Микробиологическая чистота.	Химические показатели.	Хранение
Время распадаемости (для таблеток и капсул).	Отсутствие посторонней микрофлоры.	Вещества, вносимые в препарат.	Транспортирование.
Температура и время плавления или время полной деформации (для суппозиторий) pH.	Пирогенность.	Примеси.	



Спасибо за внимание!