



Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer:

389 815 B

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 3237/84

(51) Int.Cl.⁵ : **A61K 35/14**

(22) Anmeldetag: 11.10.1984

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 7.1989

Längste mögliche Dauer: 15.10.2005

(45) Ausgabetag: 12. 2.1990

(61) Zusatz zu Patent Nr.: 385 657

(56) Entgegenhaltungen:

EP-A2-0094611 WO 82/03871 US-PS4470986 US-PS3361732

(73) Patentinhaber:

IMMUNO AKTIENGESELLSCHAFT FÜR
CHEMISCH-MEDIZINISCHE PRODUKTE
A-1220 WIEN (AT).

(72) Erfinder:

EIBL JOHANN DR.
WIEN (AT).
SCHWARZ OTTO DR.
WIEN (AT).
ELSINGER FRITZ DR.
WIEN (AT).

(54) VERFAHREN ZUR INAKTIVIERUNG VON VERMEHRUNGSFÄHIGEN FILTRIERBAREN KRANKHEITSERREGERN IN BLUTPRODUKTEN

AT 389 815 B

Das Stamm Patent Nr. 385 657 (Anmeldung A 792/84) betrifft ein Verfahren zur Inaktivierung von vermehrungsfähigen filtrierbaren Krankheitserregern in Blutprodukten unter Anwendung erhöhter Temperatur, bei welchem die Blutprodukte in festem Zustand auf einen Gehalt an Wasser, Methanol oder Äthanol von mehr als 0,05 (5 Gew.%) und weniger als 0,70 (70 Gew.%), vorzugsweise weniger als 0,40 (40 Gew.%), eingestellt und in einem geschlossenen Behälter bei einer Temperatur im Bereich von 50 bis 121°C unter Erhöhung des Partialdampfdruckes des Wassers, Methanols oder Äthanols behandelt werden.

Nach einer Behandlungszeit, die in weiten Grenzen schwanken kann, im allgemeinen jedoch schon bei Behandlungszeiten bis zu 10 h wird der Virustiter (\log_{10} TCID₅₀) von Modellviren, so etwa von Sindbis-Virus oder von Hundehepatitis-Virus auf weniger als 1 herabgesetzt, was bedeutet, daß das hitzebehandelte Präparat sicher ist, d. h. frei von vermehrungsfähigen filtrierbaren Krankheitserregern einschließlich Hepatitisviren oder Erregern von "AIDS".

Die Erfindung betrifft eine Verbesserung bzw. weitere Ausbildung des Verfahrens nach dem Stamm Patent Nr. 385657 und ist dadurch gekennzeichnet, daß die Hitzebehandlung der Blutprodukte in Gegenwart eines sauerstofffreien inerten Schutzgases, vorzugsweise Stickstoff, durchgeführt wird.

Es wurde gefunden, daß durch diese Maßnahme die Restaktivitäten bzw. Ausbeuten der Blutprodukte, insbesondere von Gerinnungsfaktoren, wesentlich höher sind als beim Erhitzen in sauerstoffhaltiger Atmosphäre, während die Virusinaktivierung hinsichtlich Ausmaß und Geschwindigkeit gleich hoch ist.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert, woraus auch Vergleichswerte unter verschiedenen zusammengesetzten Atmosphären zu entnehmen sind.

Beispiel 1:

Herstellung einer Faktor VIII-Präparation

Eine in gleicher Weise wie in Beispiel 1 des Stamm Patent Nr. 385657 (Anmeldung A 792/84) hergestellte Faktor VIII-hältige Lösung wurde mit einer Sindbis-Virus suspension in Zellkulturmedium TCM 199 bzw. mit virusfreiem TCM 199 versetzt und gefriergetrocknet.

Das gefriergetrocknete Faktor VIII-Konzentrat wurde auf einen Wassergehalt von 0,08 (8 Gew.%) eingestellt, durch dreimaliges Evakuieren auf 100 mbar und nachfolgendes Begasen mit Luft, Stickstoff, Helium bzw. Argon in verschiedene "Atmosphären" gebracht und in geschlossenen Behältern bei einer Temperatur von 80°C verschieden lang erhitzt. Von jeder Variante wurden je drei Proben vor dem Erhitzen und zu bestimmten Zeiten während des Erhitzungsvorganges zur Messung des Virustiters einerseits und der Restaktivität an Faktor VIII und des Wassergehaltes andererseits entnommen.

Die Bestimmung des Virustiters, der Restaktivität an Faktor VIII und des Wassergehaltes erfolgte, wie in Beispiel 1 des Stamm Patent Nr. 385657 (Anmeldung A 792/84) beschrieben; die Resultate sind der Tabelle I zu entnehmen. Daraus ist ersichtlich, daß die Restaktivitäten bzw. Ausbeuten an Faktor VIII beim Erhitzen in einer Inertgasatmosphäre (Stickstoff, Helium, Argon) wesentlich höher sind als beim Erhitzen in Luft. Die Geschwindigkeit der Virusinaktivierung ist hingegen unabhängig von der Atmosphäre, in der erhitzt wurde.

Beispiel 2:

Herstellung einer den partiellen Prothrombinkomplex enthaltenden Präparation

Eine in gleicher Weise wie in Beispiel 3 des Stamm Patent Nr. 385657 (Anmeldung A 792/84) hergestellte Präparation, welche die Gerinnungsfaktoren II, IX und X enthielt, wurde mit einer Sindbis-Virus suspension in Zellkulturmedium TCM 199 bzw. mit virusfreiem TCM 199 versetzt und gefriergetrocknet. Das gefriergetrocknete Konzentrat wurde auf einen Wassergehalt von 0,08 eingestellt, durch dreimaliges Evakuieren auf 100 mbar und nachfolgendes Begasen mit Luft, Stickstoff, Helium und Argon in verschiedene "Atmosphären" gebracht und in geschlossenen Behältern bei einer Temperatur von 90°C verschieden lang erhitzt. Von jeder Variante wurden je drei Proben vor dem Erhitzen und zu bestimmten Zeiten während des Erhitzungsvorganges zur Messung des Virustiters einerseits und der Restaktivität an Faktor IX und des Wassergehaltes andererseits entnommen.

Die Bestimmung des Virustiters und des Wassergehaltes erfolgte, wie in Beispiel 1 des Stamm Patent Nr. 385657 (Anmeldung A 792/84) beschrieben, die Bestimmung der Restaktivität an Faktor IX erfolgte, wie in Beispiel 3 des Stamm Patent Nr. 385657 (Anmeldung A 792/84) beschrieben.

Die Resultate sind der Tabelle II zu entnehmen. Daraus ist ersichtlich, daß die Restaktivitäten bzw. Ausbeuten an Faktor IX beim Erhitzen in einer Inertgasatmosphäre (Stickstoff, Helium, Argon) wesentlich höher sind als beim Erhitzen in Luft. Die Geschwindigkeit der Virusinaktivierung ist hingegen unabhängig von der Atmosphäre, in der erhitzt wurde.

Tabelle I

Faktor VIII-Präparation

Wasser- gehalt	Temperatur °C	Atmo- sphäre	Sindbis-Virustiter (logTCID ₅₀) nach Erhitzen während					Restaktivität Faktor VIII nach Erhitzen während		
			0	0,3	1	3	10 h	1	3	10 h
0,08	80	Luft	4,8	<1	<1	<1	<1	0,85	0,53	0,28
0,08	80	Stickstoff	5,0	<1	<1	<1	<1	0,95	0,83	0,60
0,08	80	Helium	4,7	<1	<1	<1	<1	0,97	0,85	0,62
0,08	80	Argon	4,9	<1	<1	<1	<1	0,98	0,85	0,62

Tabelle II

Präparation mit partiellem Prothrombinkomplex

Wasser- gehalt	Temperatur °C	Atmo- sphäre	Sindbis-Virustiter (TCID ₅₀) nach Erhitzen während					Restaktivität Faktor IX nach Erhitzen während		
			0	0,3	1	3	10 h	1	3	10 h
0,08	90	Luft	4,7	<1	<1	<1	<1	0,63	0,30	0,07
0,08	90	Stickstoff	4,9	<1	<1	<1	<1	0,82	0,55	0,22
0,08	90	Helium	5,1	<1	<1	<1	<1	0,75	0,47	0,14
0,08	90	Argon	4,8	<1	<1	<1	<1	0,70	0,42	0,12

PATENTANSPRUCH

Verfahren zur Inaktivierung von vermehrungsfähigen filtrierbaren Krankheitserregern in Blutprodukten unter Anwendung erhöhter Temperatur, bei welchem die Blutprodukte in festem Zustand auf einen Gehalt an Wasser, Methanol oder Äthanol von mehr als 0,05 (5 Gew.%) und weniger als 0,70 (70 Gew.%), vorzugsweise weniger als 0,40 (40 Gew.%), eingestellt und in einem geschlossenen Behälter bei einer Temperatur im Bereich von 50 bis 121°C unter Erhöhung des Partialdampfdruckes des Wassers, Methanols oder Äthanols behandelt werden nach Patent Nr. 385657, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Hitzebehandlung der Blutprodukte in Gegenwart eines sauerstofffreien inerten Schutzgases, vorzugsweise Stickstoff, durchgeführt wird.