



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

224 347

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 04 82
(21) PV. 2685-82

(51) Int. Cl.³ A 61 K 39/395

(40) Zveřejněno 29 04 83
(45) Vydáno 01 07 84

(75)

Autor vynálezu VAŇÁK JAN MUDr., OLMOUC
STEJSKAL ALEŠ RNDr., PŘÁSLAVICE
KSELÍKOVÁ MARIE ing., PRAHA
URBÁNKOVÁ JIŘINA, PRAHA

(54) Způsob výroby specifického imunoglobulinu anti-HBs pro prevenci virové hepatitidy
typu B

224 347

Vynález se týká způsobu výroby imunoglobulinu anti-HBs pro prevenci virové hepatitidy typu B ze sušiny imunoglobulinu, která se rozpustí ve stabilizovaném pasteurizovaném roztoku albuminu v optimálním množství podle obsahu specifických anti-HBs protilátek.

U doposud známého způsobu přípravy specifického imunoglobulinu anti-HBs se sušina imunoglobulinu, získaná etanolvou frakcionací lidské krevní plasmy s vysokým obsahem anti-HBs protilátek, rozpouští v roztoku obsahujícím glukózu, kyselinu epsilonaminokapronovou a chlorid sodný. Výsledná koncentrace bílkoviny v konečném roztoku se pohybuje v rozmezí 140 až 180 g/l.

Nevýhodou této metody je nízká stabilita finálního roztoku, provázená vypadáváním nerozpustných bílkovin, což nutí provádět opakované filtrace, které způsobují nežádoucí ztráty a tím snižují výtěžnost hotového produktu. Případným dalším snižováním koncentrace bílkoviny v konečném roztoku pod hranici 140 g/l, která je dolním limitem dosavadního produktu, se stabilita bílkovin v roztoku dále zhoršuje. Tento faktor zamezuje využít možnosti eventuálního ředění výsledného roztoku imunoglobulinu v případě, jestliže to umožňuje dostatečně vysoký obsah specifických anti-HBs protilátek.

Úkolem vynálezu je vytvořit postup, který umožní přípravu specifického imunoglobulinu anti-HBs pro prevenci virové hepatitidy typu B s podstatným snížením uvedených nevýhod. Podstatou vynálezu je, že sušina imunoglobulinu anti-HBs se rozpustí v roztoku, který obsahuje stabilizovaný pasteurizovaný lidský

albumin v koncentraci 30 až 150 g/l, s výhodou 50 g/l, kyselinu aminooctovou v koncentraci 15 až 30 g/l, chlorid sodný v koncentraci 3 až 9 g/l a thiomersal v koncentraci maximálně 0,1 g/l. Sušina imunoglobulinu se přidá v takovém množství, aby výsledný roztok byl při ředění 1/25000 pozitivní na obsah protilátek anti-HBs technikou radioimunoanalýzy (RIA).

Systém radioimunoanalytického průkazu protilátek anti-HBs spočívá v tom, že na kuličkách z umělé hmoty je vázán lidský povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg). Kuličky se umístí do jamek z umělé hmoty a přidá se příslušné ředění vyšetřovaného roztoku imunoglobulinu. Je-li v příslušném ředění imunoglobulinu přítomna protilátka anti-HBs, naváže se na antigen HBsAg na kuličce během inkubace. Po inkubaci se roztok odsaje, kuličky se promyjí a přidá se HBsAg značený radioaktivním iodem (^{125}I), který se naváže na protilátku na kuličce. Kuličky se znovu promyjí a měří se stupeň radioaktivity na gama počítací. Čím vyšší je počet naměřených impulsů, tím více je přítomno protilátek anti-HBs ve vyšetřovaném vzorku imunoglobulinu.

Předmětem vynálezu se dosahuje vyššího účinku tím, že vzhledem ke stabilizačnímu efektu albuminu, nedochází k nežádoucímu vypadávání bílkovin v roztoku a to i při značně nízké koncentraci imunoglobulinu anti-HBs. Tohoto efektu lze s výhodou využít při přípravě roztoku imunoglobulinu anti-HBs, jehož koncentrace může být podstatně nižší než u dosavadního preparátu a to v přímé závislosti na obsahu specifických anti-HBs protilátek, zjištěných technikou radioimunoanalýzy (RIA). Uplatnění navrženého postupu se projeví zejména optimálnějším využitím sušiny imunoglobulinu anti-HBs.

Příklad postupu výroby specifického imunoglobulinu anti-HBs pro prevenci virové hepatitidy typu B podle vynálezu.

Sušina imunoglobulinu anti-HBs o elektroforetické čistotě minimálně 95% získaná etanolovou frakcionací lidské krevní plasmy s vysokým obsahem anti-HBs protilátek, se rozpustí v roztoku obsahujícím stabilizovaný lidský albumin v koncentraci

224 347

50 g/l, který byl předem pasteurizován minimálně 10 hodin při 60°C, dále kyselinu aminooctovou v koncentraci 22,5 g/l, chlorid sodný v koncentraci 7 g/l a thiomersal v koncentraci 0,1 g/l. Popsaným způsobem se nejprve připraví zkušební vzorky s postupně klesající koncentrací imunoglobulinu anti-HBs v roztoku a to od 160 g/l až po 40 g/l. V jednotlivých vzorcích se technikou radioimunoanalýzy (RIA) stanoví obsah specifických protilátek anti-HBs. Na základě výsledků se zvolí definitivní návážka sušiny pro přípravu vlastního farmaceutického roztoku a to podle toho vzorku, ve kterém je při minimální váhové koncentraci imunoglobulinu stále ještě vyhovující obsah protilátek anti-HBs technikou radioimunoanalýzy (RIA), to jest pozitivní hodnota při ředění vzorku 1/25000.

U takto vyrobeného roztoku se provede úprava pH na hodnotu 7,0 a dále se roztok sterilně filtruje přes azbestocelulózové vrstvy. U tohoto produktu se provedou příslušné chemické a biologické zkoušky včetně definitivního ověření obsahu anti-HBs protilátek technikou radioimunoanalýzy (RIA), přičemž hodnoty musí být pozitivní ještě při ředění 1/25000. Nakonec se provede rozplnění po 5 ml, případně po 1 ml.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

224 347

Způsob výroby specifického imunoglobulinu anti-HBs pro prevenci virové hepatitidy typu B ze sušiny imunoglobulinu anti-HBs, ^{která se} rozpouští v roztoku, obsahující stabilizovaný pasteurizovaný lidský albumin v koncentraci 30 až 150 g/l a kyselinu aminooctovou v koncentraci 15 až 30 g/l, vyznačující se tím, že tento roztok dále obsahuje chlorid sodný v koncentraci 3 až 9 g/l a thiomersal v koncentraci maximálně 0,1 g/l, přičemž množství rozpouštěné sušiny se určí podle předběžného vyšetření obsahu protilátek anti-HBs technikou radioimunoanalýzy (RIA) tak, aby konečný roztok imunoglobulinu byl na tyto protilátky pozitivní ještě v ředění 1/25000.