Теория и практика применения фильтров семейства Зета Плюс и других фильтров CUNO при фракционировании плазмы крови для получения альбумина и гаммаглобулинов.

М.А. Тереньев к.б.н. ЗАО «3М Россия»

Фильтры Зета Плюс используются практически всеми известными мировыми производителями препаратов белков из плазмы крови. Ведущие европейские переработчики плазмы включая предприятия системы Красного Креста наработали большой технологический опыт применения этих материалов на различных стадиях производства.

История создания этих фильтров напрямую связана с запретом в середине 70-х годов использования асбестсодержащих материалов при производстве инъекционных препаратов. Именно этот запрет резко стимулировал разработку материалов для замены очень популярных, но, как оказалось, опасных асбесто-целлюлозных фильтров. Разработки фирмы CUNO увенчались полным успехом. Фильтры Зета Плюс существенно превышают фильтрационные свойства асбестовых фильтров практически по всем позициям. Использование фильтров Зета Плюс является технологическим стандартом лучших производств, сертифицированных по высшим требованиям качества и биологической безопасности.

Отделение жидкой фракции от твердой играет решающую роль при операциях сепарирования крови с целью получения белков в достаточно концентрированной и очищенной форме. Существенная часть фракций до сих пор производится методом, впервые описанным Коном и др. (1946 г.), правда, с тех пор появилось множество модификаций этой методологии. Фракционирование включает большее или меньшее, в зависимости от конкретной методики, число холодовых переосаждений этанольного раствора плазмы.

Успех каждого этапа работы зависит от качества выполнения предыдущего. В особенности - от качества удаления таких загрязнений, как липиды, денатурированные белки или другие примеси, возникающие при криопреципитации. Два основных метода, обычно используемые при переходе от стадии осаждения к стадии концентрации - это фильтрация и центрифугирование. При этом задачей фильтрации является удаление из раствора остатков наиболее тонких слабо-седиментирующих примесей, в основном в виде коллоидных частиц различной природы, присутствие которых вызывает опалесценцию раствора. Такого рода тонкую фильтрацию обычно называют осветляющей.

Выбор фильтрационных средств при этом должен обеспечить:

- возможность пропускать большие объемы растворов с **достаточным запасом надежности** по улавливанию частиц загрязнений,
- хороший ресурс.

Такая фильтрация особенно необходима для следующих этапов фракционирования, которые будут рассмотрены в дальнейшем:

⇒ предварительная фильтрация свежеразмороженной плазмы,
⇒ надосадочная жидкость IV,
⇒ надосадочная жидкость V,
⇒ надосадочная жидкость III,
⇒ осадок II после растворения,
⇒ снижение содержания липидов,
⇒ удаление гемипигментов
⇒ контроль пирогенности,
⇒ удаление вирусов,
⇒ защита ультрафильтра,
⇒ финальная стерилизующая фильтрация перед розливом.

Качества, требуемые для осветляющей фильтрации, равно необходимы и для предварительной фильтрации перед стерилизацией на мембране в результате которой становятся обязательными и другие качества продукта:

- полная стерильность,
- отсутствие пирогенности,
- минимум потерь в процессе работы.

ОСНОВНЫЕ ТИПЫ И СВОЙСТВА ЗАГРЯЗЯЮЩИХ ПРИМЕСЕЙ ПРИ ФРАКЦИОНИРОВАНИИ

Общей для обоих типов фильтрации является природа загрязнений, частицы которых надо удалить из фильтрата, среди которых:
- агломераты молекул,
- денатурированные белки (от 0,5 до 10 мкм),
- липиды (от 0,1 до 10 мкм),
- холестерин (от 0,1 до 10 мкм),
- каротиноиды (от 0,1 до 10 мкм),
- эмульсии (от 0,1 до 10 мкм),
- липопротеины (около 0,1 мкм),
- бактерии (от 0,5 до 5 мкм),
- бактериофаги и вирусы (от 0,003 до 0,005 мкм).

Даже если некоторая часть этих загрязнений устранена центрифугированием, то большое число их остается и после центрифугирования в количествах, достаточных для того, чтобы вызвать нестабильность продукта или преждевременную забивку ультрафильтрационных модулей и стерилизующей мембраны.

Успех удаления загрязнений с помощью фильтрации зависит в первую очередь от их физических характеристик.

Основная из этих характеристик - **коллоидная природа взвесей**, представленных в различных белковых фракциях. Пластичность коллоидных частиц делает их особенно проблемными загрязнениями, трудно задерживаемыми при фильтрации.

Другое их свойство - это большая или меньшая **склонность к агломерации**, от которой зависит устойчивость продукта. Следовательно, необходимо удалить загрязнения всех видов, включая неагломерированные, чтобы уменьшить риск выпадения осадков и появления опалесценции на следующих этапах.

Еще одно желательное свойство нежелательных примесей, существенное при фильтрации - их **способность адсорбироваться** на поверхностях волокон или других естественных материалов, используемых для изготовления фильтров.

МЕХАНИЗМЫ УДАЛЕНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ПРИ ФИЛЬТРАЦИИ

Задержание загрязнений на фильтре может происходить за счет различных механизмов.

Задержание на поверхности фильтра при помощи механического просеивания (мембраны) должно удалять все частицы загрязнений, размеры которых больше, чем поры фильтра. В действительности, эффективность такого типа удержания будет в высокой степени зависеть от природы частиц загрязнителя и от условий процесса фильтрации.

Так, способные к деформации (пластичные) частицы загрязнений смогут проходить, продавливаться через фильтр в условиях повышенного давления и относительно слабой пропускной способности. Вдобавок, поскольку частицы этих загрязнений недостаточно тверды, они не смогут образовать так называемый “предварительный слой”, который, как правило, образуется на поверхности мембраны твердыми частицами загрязнений, не блокируя поток. Преобладание пластичных частиц вызывает очень быструю закупорку пор фильтра. Ресурс фильтра при этом оказывается в большинстве случаев очень низким. Эта проблема имеет особую актуальность именно для коллоидных загрязнений, которые являются характерным спутником растворов с высоким содержанием белка.

Чтобы увеличить количество удержанных фильтром загрязнений и увеличить его ресурс, особенно, если основную массу загрязнений составляют коллоиды, используются средства, фильтрующие “на глубине” (глубинные фильтры). В этих фильтрах задержание частиц происходит не только на поверхности, как это имеет место на мембране, но и при контакте частиц загрязнений с материалом фильтра в толще фильтрующего матрикса. Эффект получается за счет гораздо более долгого контакта частиц загрязнений с материалом фильтра во время прохождения каналов фильтрующего матрикса с очень большой поверхностью.

Физические процессы задержания частиц в толще материала при глубинной фильтрации могут иметь различные механизмы в зависимости от природы частиц загрязнений: прямой перехват, броуновское движение или электрокинетическая адсорбция.

Адсорбция особенно важна при фильтрации фракций крови, учитывая коллоидную природу и поверхностный заряд (отрицательный зета-потенциал коллоидных частиц, которые нужно удалить). Для того, чтобы быть достаточно проницаемым, фильтрующий материал должен состоять из “каналов” или пор, достаточно широких, чтобы пропустить неагломерированные коллоидные частицы вглубь фильтрационного матрикса, где они будут задержаны в основном за счет электрокинетической адсорбции.

К настоящему времени мы имеем более чем 30-летний опыт производства и применения этих фильтров при фракционировании плазмы вместо асбесто-целлюлозных материалов.

СОСТАВ ФИЛЬТРАЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ЗЕТА ПЛЮС .

Три компонента, составляют основную формулу этих фильтрационных материалов:

- очищенное особым образом волокно целлюлозы образует структуру и основу этих материалов,
- неорганические добавки, такие как диатомит или перлит, обеспечивают большую внутреннюю удельную поверхность фильтрующего материала,
- полимерная смола, несущая электроположительный заряд, служит связующим веществом а также придает фильтру механическую прочность и прекрасные сорбционные свойства.

Все эти компоненты утверждены в FDA как безопасные и сертифицированы по VI классу тестов на биологическую безопасность фармакопеей США.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ФИЛЬТРОВ ЗЕТА ПЛЮС

Компоненты добавляются в водную суспензию в строгой пропорции в соответствии с точной формулой. Эта суспензия выливается в точно определенном количестве в раму. Приложение вакуума к пористому основанию рамы быстро удаляет большую часть воды. Далее влажная плита проходит через туннельную печь для сушки и термической полимеризации смолы.

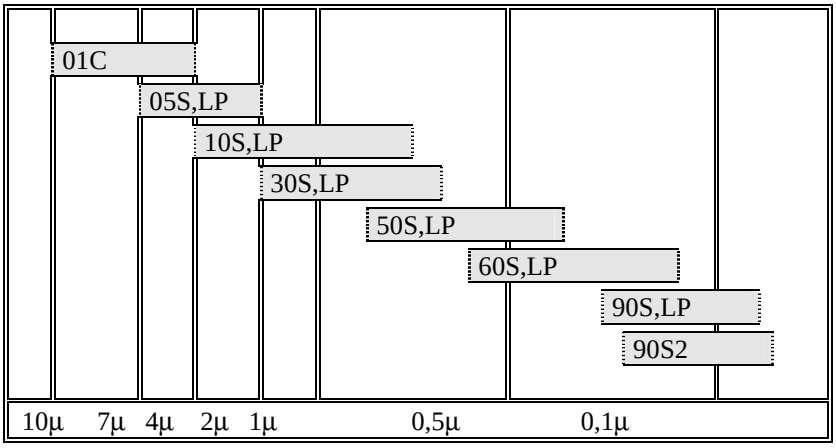
Изготовление средства Зета Плюс требует применения специальной технологии. Действительно, речь идет не о постоянном поточном процессе, а о производстве партиями. Такой метод дает двойную выгоду. Прежде всего, изготовление с помощью следующих друг за другом плит позволяет удалять воду гораздо более эффективно. Так мы избегаем оседания волокон, и полученный материал имеет более высокую пористость и большую проницаемость. Другое существенное преимущество производства партиями - строгий индивидуальный контроль за качеством каждой партии каждого сырьевого компонента, параметрами производственного процесса и качеством конечного продукта.

В процессе прохождения листа через туннельную печь смола полимеризуется и чрезвычайно прочно связывает различные компоненты с волокнами. Таким образом получается фильтрационный материал, заряженный и механически весьма прочный, каждое волокно которого покрыто защитной оболочкой и соединено со всеми остальными. Механическая прочность материала Зета Плюс в несколько раз выше показателей асбестовых аналогов.

Полимеризация связующего вещества позволяет усилить положительный заряд поверхности фильтров Зета Плюс, что обеспечивает значительно (в несколько раз) превосходящую плотность заряда и сорбционную емкость по сравнению с асбестовыми фильтрами.

Этот заряд позволяет достичь гораздо более высокой эффективности удаления субмикронных коллоидных частиц из фильтрата. Вместе с тем, невозможно точно оценить, какова именно доля каждого из механизмов в удержании загрязнений: механическое просеивание, эффект “глубинного” фильтра, электрокинетическая адсорбция. На рисунке 1 представлены показатели эффективности фильтрации разных марок фильтра, отличающихся по плотности материала (размеру пор). Субмикронное удержание очень важно для тонкого осветления продуктов, а также для лучшей защиты стерилизующих мембран.

Марка
фильтра



Рейтинг фильтрации

Рис.1. Зависимость эффективности фильтрации от марки фильтра

СИСТЕМА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ФИЛЬТРОВ ЗЕТА ПЛЮС

Еще раз подчеркнем, что контроль качества Зета Плюс производится для каждой партии на всех стадиях технологического цикла и, конечно, предусматривает тщательные испытания готовой продукции. На заводе-изготовителе хранятся референтные образцы из всех произведенных в течение последних пяти лет партий материалов.

Контроль качества производится по трем направлениям: физические испытания, химические испытания, испытания на пирогенность.

Физические испытания

1. Плотность материала проверяется на каждом этапе изготовления для того, чтобы убедиться в точном соответствии каждой партии номинальной плотности.

2. Расход воздуха: простой способ проконтролировать, что проницаемость материала для воздушного потока соответствует спецификациям каждой марки материала.

3. Усилие разрыва образца материала во влажном состоянии позволяет узнать его механическую прочность для каждой марки материала.

Следующие результаты показывают механическую прочность Зета Плюс по сравнению с другими фильтрующими средствами. Большая прочность дает дополнительные гарантии сохранения номинальных фильтрующих качеств в течение всего процесса работы.

Типы Зета Плюс	**Прочность, кг/см^2**
05SP(LP)	4,30
50SP(LP)	4,17
60SP(LP)	3,37
90SP(LP)	6,30
Аналогичный материал	Прочность, кг/см^2
Асбест/целлюлоза	1,08

4. Титрование красителя (Dye Test) - специальный тест для Зета Плюс, позволяющий контролировать уровень Зета-потенциала, который определяет сорбционную способность материала.

Химические испытания

1. Контроль всех экстрагируемых органических веществ с помощью спектрофотометрии: этот тест характеризует степень полимеризации смолы, импрегнирующей материал Зета Плюс.

2. Неорганические экстрагируемые вещества по содержанию в экстрактах ионов Fe и Ca проверяются для каждой партии с помощью спектрофотометрии.

3. Уровень окрашенных из-за нагревания целлюлозы экстрагируемых веществ проверяют с целью удостовериться, что их содержание не превышает установленных пределов.

Измерение пирогенности

1. Стандартные материалы марки S не являются объектом контроля пирогенности.

2. Фармацевтические типы марки SP проходят контроль качества с критическим уровнем пирогенности промывной воды 50 ед/мл. Измерение осуществляется с помощью LAL теста после промывки, эквивалентной 55 л/м^2.

3. Фармацевтические типы марок LP, предназначенные для работы с инфузионными растворами и препаратами, имеют спецификацию не выше 25 ед/мл пирогенных веществ после промывки, эквивалентной 55 л/м^2.

Измерение пирогенности осуществляется с помощью LAL-теста. Специальные режимы обработки целлюлозы, используемой при производстве средства LP, позволяет получать результаты с помощью LAL-тестов, проводимых вручную, практически исключающие получение ложных результатов пирогенности продукта из-за присутствия побочных продуктов разложения целлюлозы.

ФОРМЫ ВЫПУСКА ФИЛЬТРОВ ЗЕТА ПЛЮС

Как было показано выше, имеется в наличии широкий выбор материалов Зета Плюс различной плотности и, соответственно, уровней фильтрации.

Фильтропатроны Зета Плюс изготавливают из линзообразных элементов, каждый из которых состоит из полипропиленового сетчатого полого каркаса в виде чечевицы и круглых пластин Зета Плюс с отверстием в центре, прилегающих к каркасу с обеих сторон. Герметизация швов по краю пластин в составе линзообразного элемента, а также мест контакта между соседними линзообразными элементами достигается за счет полипропиленовых термопластических соединений уплотнительных колец и шайб без каких-либо клеящих веществ.

Дополнительным элементом прочности конструкции патрона являются стяжки из металлических полосок, которые надежно удерживают стопку линзовидных элементов в тесном контакте друг с другом.

КОНСТРУКЦИЯ СТАНДАРТНЫХ ФИЛЬТРОПАТРОНОВ ЗЕТА ПЛЮС

Максимальная рабочая температура для материалов марки С - 60°С, для марки S, SP, LP - 80°С.

Стерилизацию фильтров марки S, SP, LP производят в автоклаве или паром на линии.

Собранные таким образом патроны поставляются для использования в герметично закрываемых корпусах типа Зета Плюс производства фирмы CUNO. Имеются фильтропатроны трех диаметров: 8 дюймов (180 мм), 12 дюймов (290мм) и 16 дюймов (410 мм).

Фильтропатроны, характеристики которых указаны в таблице, представленной ниже, устанавливаются в корпусах соответствующего диаметра в количестве от одного до четырех в зависимости от необходимой производительности процесса. Вы можете выбрать аппарат необходимой Вам производительности с возможностью использовать его как на меньшем, чем в стандартном, режиме, так и на большем потоке.

Фильтродержатель модели 8ZP1P

Для работы с небольшими партиями в несколько литров или несколько десятков литров удобно применять настольный металлический держатель типа 8ZP1P (слева) с одним патроном, имеющим площадь фильтрации 0,3 м^3. Эта площадь эквивалентна площади 4,5 пластин диаметром 293 мм. Имеются также патроны с меньшей площадью фильтрации для совсем небольших партий до нескольких литров с площадью 0,2 м^3, эквивалентной площади трех пластин диаметром 293 мм. Можно также выбрать патроны с площадью фильтрации 0,1 м^2, эквивалентной площади 1,5 пластин диаметром 293 мм.

Характеристики фильтропатронов и корпусов Зета Плюс

Тип	**Диаметр, дюймы/мм**	**Фильтрующая поверхность одного патрона, м^2**	**Держатель (корпус)**	**Число патронов для установки**
Z08P	8/180	0,3	8ZP1P	1
Z08D	8/180	0,4	8ZPC	1-4
Z12C	12/290	1,0	12ZPC	1-4
Z12D	12/290	1,8	12ZPC	1-4
Z16D	16/410	3,7	16ZPC	1-4

На аппаратах, указанных в таблице, успешно работают в течение ряда лет такие предприятия по переработке плазмы как Челябинская ОСПК, Ивановская ОСПК, Сангвис (Екатеринбург), Московская ГСПК, Самарская ОСПК, Республиканский центр крови Алматы (Республика Казахстан).

Фильтры Зета Плюс обладают высокой механической прочностью. Они выпускаются также и в виде пластин самых разной формы и размеров. Наиболее популярные в России и СНГ круглые пластины диаметров 142 мм, 293 мм и 300 мм. Последние предназначены для установки в хорошо известные каждому технологу фильтры Сальникова.

Специальные пластиковые капсюли Биокап (Biocap внизу на рисунке справа), не требующие металлических держателей, позволяют работать с дорогими и редкими партиями препаратов в небольших объемах, разрабатывать технологические процессы с использованием фильтрации, а также проводить лабораторные исследования. Капсюли Биокап производятся с площадью фильтрации 27 см^2, 850 см^2 и 1700 см^2. Это готовые к

фильтрации ячейки из пластика, которые подключаются непосредственно к трубопроводам фильтрационной системы. Они стерилизуются в автоклаве на стандартных режимах.

Стандартные корпуса типа Зета Плюс для патронов CUNO изготавливаются из фармацевтической нержавеющей стали, патроны в них насаживаются на центральный стержень, их количество, как уже указывалось, может меняться соответственно необходимым условиям процесса. Вы можете выбрать корпуса стандартных фильтров Зета Плюс, имеющие различные классы обработки поверхности. Эти устройства, соединяющие простоту в использовании с умеренной ценой, по сравнению с пресс-фильтрами полностью соответствуют требованиям GMP в отличие от тех же пресс-фильтров. Для особо ответственных фильтрационных процессов мы рекомендуем заказывать оборудование с зеркальной полировкой поверхностей, необходимой, например, по правилам GMP, для стерилизующего и другого фармацевтического оборудования.

Преимущества фильтрации на линзовидных патронах Зета Плюс:

- быстрота замены патронов,
- полностью закрытый фильтр, **исключающий:** риск заражения фильтрата через окружающий воздух, потери при просачивании фильтрата через кромки пластин фильтр-пресса, риск пожара при фильтрации воспламеняющихся продуктов,
- быстрые и простые процессы разборки корпуса, замены патронов, санитарной обработки и стерилизации оборудования,
- компактность и легкость фильтродержателей позволяют значительно уменьшить габариты производственных установок и экономить площадь, фильтры можно устанавливать на тележке,
- потери веществ при адсорбции в фильтрующих средствах по сравнению с другими фильтрами обычно несущественны. После фильтрации возможно произвести вытеснение оставшегося в корпусе продукта под давлением воздуха или газа, конечно, отфильтрованных.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЛЬТРОВ ЗЕТА ПЛЮС

Далее, мы остановимся на конкретных методологических рекомендациях по использованию фильтров Зета Плюс при фракционирования крови по Кону, будет рассмотрено использование фильтров Зета Плюс на альбумине для свежезамороженной плазмы, надосадочной жидкости и фракции IV, а затем для иммуноглобулинов для надосадочной жидкости III и для осадка II.

Фильтрация свежезамороженной плазмы.

Предварительная фильтрация плазмы перед технологическим процессом призвана освободить ее от грубых примесей, чтобы предотвратить попадание в процесс таких типов загрязнений, как крупные и мелкие сгустки, денатурированный белок, механические частицы, попадающие в емкость при вскрытии мешков и т.п. Основная часть таких загрязнений попадает в процесс при отсутствии фильтрации, или, часто практикуемой фильтрации через марлю и др. подобные материалы, которые, как, например, марля, сами вносят большое количество ворса, продуктов деградации целлюлозы (они могут вызывать ложно позитивный результат при анализе содержания эндотоксинов по LAL –тесту. Предварительная фильтрация на фильтропатронах Зета Плюс марок 01C, или 05S значительно улучшает кондицию, оптические свойства сырья за счет удаления не только механических примесей, но и грубых коллоидных загрязнений. Наши заказчики, практикующие такую фильтрацию отмечают, что фракционирование проходит гораздо эффективнее и качество альбумина улучшается. Удается избавиться от некоторых проблем, связанных с попаданием в обработку посторонних коллоидных примесей, легко удалимых из сырой плазмы таким фильтрованием.

Фильтрация альбумина: супернатант IV

Белковый раствор на этом уровне содержит 40% спирта, имеет pH 6 при температуре -5°C. Такая комбинация условий позволяет удалить липиды и денатурированные белки.

Типы Зета Плюс 60LP и 90LP доказали свою эффективность для двухступенчатой очистки на этой стадии. Важно добиться очень хорошей очистки на этой стадии, поскольку она оказывает решающее влияние на качество следующей фракции, которую будет гораздо труднее обрабатывать из-за ее концентрированности.

Габариты фильтров будут в основном зависеть от двух факторов: объема, подлежащего обработке и от качества предшествующего центрифугирования.

Следующая таблица дает некоторые рекомендации по выбору типа установки для двухстадийной фильтрации в зависимости от объемов супернатанта IV, подлежащих обработке.

Объем раствора, л	700	1400	2100	2800	4200
Эквивалент в плазме, л	420	840	1260	1680	2520
Тип фильтродержателя (предфильтр)	12ZPC1	12ZPC2	12ZPC3	16ZPC2	16ZPC3
Количество патронов	1	2	3	2	3
Тип патронов	Z12D60S/LP	Z12D60S/LP	Z12D60S/LP	Z16D60S/LP	Z16D60S/LP
Поверхность, $м^2$	1,8	3,6	5,4	7,4	11,1
Тип фильтродержателя (финальный фильтр)	12ZPC1	12ZPC2	12ZPC3	16ZPC2	16ZPC3
Количество патронов	1	2	3	2	3
Тип патронов	Z12D90S/LP	Z12D90S/LP	Z12D90S/LP	Z16D90S/LP	Z16D90S/LP
Поверхность, $м^2$	1,8	3,6	5,4	7,4	11,1

Если мы хотим профильтровать те же объемы, но за более короткий промежуток времени, то необходимо в той же пропорции увеличить размер фильтра. Должна всегда соблюдаться удельная пропускная способность, **меньшая, чем 100 л/час/$м^2$.** Предшествующие этапы центрифугирования также имеют первостепенное значение для габаритов фильтрационной установки. Рекомендованные типы фильтров, представленные на таблице ниже, относятся к растворам, подвергшимся двойному центрифугированию. ***В случае одноразового центрифугирования необходимо удвоить поверхность фильтров.***

Фильтрация альбумина: фракция V

Концентрация альбумина для этой фракции может варьировать. Однако какова бы ни была концентрация, от 4 до 20%, цель остается одной: защитить последующую стерилизующую мембрану 0,2 мкм от преждевременной забивки. Для эффективной защиты используют тонкую фильтрацию на материале 90 S/LP, которая сама по себе способна обеспечить номинальную стерильность продукта, т.е. удалить основную массу микроорганизмов.

Проблемы при обработке и эффективность фильтрации на этом этапе будут зависеть от качества предшествующих фильтраций, в основном, на этапе IV.

В случаях, когда очистка предшествующего супернатанта не гарантирована двойной последовательной фильтрацией на 60S/LP, а затем на 90S/LP, необходимо будет увеличить поверхность фильтра на предфильтрации альбумина.

Приведенный ниже пример относится к фракции, очищенной на предшествующей стадии IV на двух ступенях 60LP и 90LP.

100-200	300-600	600-1000	Объем раствора, л
12ZPC1	12ZPC2	12ZPC3	Тип фильтродержателя
1	2	3	Количество патронов

12D90S/LP	12D90S/LP	12D90S/LP	Тип патронов
1,8	3,6	5,4	Поверхность, $м^2$

Продолжительность фильтрации - от 1 до 2 часов в соответствии с объемом и концентрацией.

Чтобы фильтрация альбумина была высококачественной, как в течение стадии IV, так и на финальном этапе V, надо постоянно учитывать очень важный для успеха фактор - перепад давления на фильтре.

Рекомендуется иметь систему с такими габаритами, чтобы разность давлений не превышала 1 бар к концу фильтрации партии.

Фильтрация иммуноглобулинов

Как и при фильтрации альбумина, эффективная обработка на этой стадии облегчит последующие этапы работы. На уровне стадии III также рекомендуется использование двойной фильтрации: 50S/LP или 60S/LP на первом этапе и в дальнейшем 90S или LP. Чтобы фильтрация 50S/LP была эффективной, удельная пропускная способность не должна превышать 80 $л/м^2$/час. Использование 90S/LP возможно при более высокой пропускной способности - порядка 100-120 $л/м^2$/час. В дальнейшем, при образовании осадка фракции II по Кону, необходима будет новая фильтрация.

Действительно, после растворения осадка II, перед концентрированием с помощью ультрафильтрации, новый этап фильтрации на 90LP позволит получить необходимую высокую прозрачность. В этом случае снова перепад давления на фильтре должен оставаться очень низким.

Например, были получены следующие результаты. Фильтрация внутримышечного гаммаглобулина 16,5% при 18°C. Объем партии - 250 л. Разность давления - 0,3 бар. Время фильтрации - 1 час. Держатель типа 8ZPC3 с патронами Z8D90S с общей поверхностью 1,1 $м^2$.

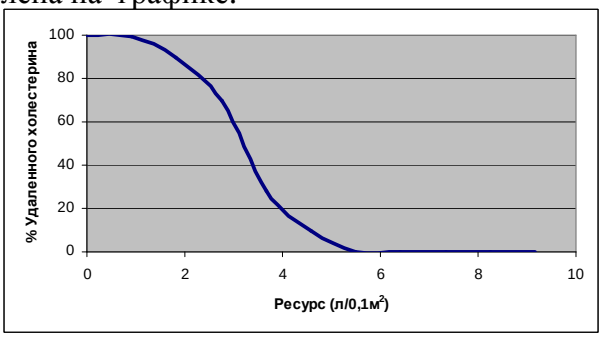
В заключение отметим, что каждый из следующих факторов будет определяющим в процессе фильтрации:

- качество предшествующей обработки,
- объем обрабатываемой партии,
- желательная продолжительность обработки,
- разность давлений (перепад).

Важно, чтобы ни один из них не стал фактором снижения качества продукта.

Снижение содержания липидов.

Хилезная плазма постоянно встречающаяся проблема, возникающая, несмотря на усилия по работе с донорами. Во многом, она связана с вынужденным снижением уровня культуры донорского контингента в условиях общего дефицита сырья. Удаление липидных загрязнений – сложная технологическая задача. Для ее решения в нашем арсенале фильтрационных средств имеется фильтрационный материал Зета Плюс Делипид . Этот фильтрационный материал имеет в своем составе гидрофобные компоненты, которые сорбируют липидные молекулы. Эффективность этого материала представлена на графике.



Связывание липидов на фильтрах этого типа происходит во время контакта фильтрата со средой фильтра за счет адсорбционного связывания. Рекомендуемый поток фильтрата: 1,5 -3,0 литра в минуту через 1 $м^2$ (максимум 0,2 литра в минуту через пластину диаметром 293 мм).
Эффективность удаления липидов из фильтрата будет существенно зависеть от времени контакта фильтрата с фильтрационной средой (скорости потока), pH, проводимости раствора (ионной силы), температуры и состава фильтрата, природы и концентрации липидов. Для увеличения срока службы пластин Delipid мы рекомендуем использовать в качестве предфильтра материал Zeta Plus 60S или 60LP. В некоторых случаях это может продлить жизнь фильтра в 1,5 раза и более.

Удаление гемипигмента, контроль пирогенности.

Работа с проблемными партиями продукта значительно облегчается при использовании материала Зета Карбон. Это еще один представитель семейства Зета Плюс - материал, который имеет, как дополнительный сорбирующий компонент, очищенный активированный уголь, связанный в структуре фильтра. Именно этот материал применяется в случаях, когда другие фильтрационные средства бесполезны.
Недопустимо присутствие опалесценции любого происхождения и любой интенсивности в растворе. Перед фильтрацией на фильтре Зета Карбон раствор должен быть тщательно очищен от коллоидных загрязнений на уровне абсолютной фильтрации 0,5 - 1,0 микрон (например, на фильтрах Зета плюс марки 60SP). Следует выдерживать ограниченный поток на данную площадь фильтрации из расчета не более 3 литров в минуту на 1 квадратный метр фильтрующей поверхности. Обычно пропускная способность фильтра больше, чем необходимая для качественной фильтрации производительность фильтра. Например, для пластины диаметром 293 мм **максимальный поток не должен превышать 200 мл/мин**.

Пластины и патроны Зета Плюс.

Защита ультрафильтра.

Ультрафильтрационные установки, которых наша фирма не производит, требуют бережного обращения и являются дорогостоящим оборудованием. Защита таких установок с помощью наших фильтров- технология, позволяющая эксплуатировать ультрафильтры в щадящем режиме и не нагружать его несвойственными загрязнениями. Материал фильтра Зета Плюс марок 90LP, или 90SP , установленного перед ультрафильтрационной установкой снимает вопросы с трудностями регенерации мембранных модулей, значительно повышает их ресурс и увеличивает выход белка.

Финальная стерилизующая фильтрация.

Мембранные стерилизующие фильтры нашего производства сочетают ряд новых технологических подходов, определяющих их высокую надежность , термическую устойчивость, непревзойденный ресурс и крайне низкую сорбционную активность. Все эти качества делают патроны, капсюли, пластины в высшей степени конкурентоспособными на мировом рынке средств стерилизующей фильтрации.

Термическая и химическая стойкость стерилизующегофильтра BioASSURE		
Тип теста	Условия теста	Целостность после теста
Пропаривание на линии	20 циклов по 30 мин при 135°C	Полная
Замачивание в р-ре 1М NaOH	10 циклов по 60 мин при 60°C	Полная
Замачивание в р-ре 1М уксусной к-ты	10 циклов по 60 мин при 25°C	Полная
Замачивание в р-ре 1М соляной к-ты	10 циклов по 60 мин при 25°C	Полная

Ресурсные испытания показали, что новые подходы позволяют добиваться большей надежности, большего ресурса на более компактных, чем у конкурентов установках.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ФИЛЬТРОВ ЗЕТА ПЛЮС

Как в большинстве отраслей промышленности, использующих фильтрацию, результат зависит от двух элементов: качества материала и правильного его использования.

В предыдущих разделах мы занимались выбором материала, наиболее пригодного для данной работы материала. Теперь мы рассмотрим несколько моментов использования и обслуживания материалов, что часто позволяют извлечь максимальную выгоду, правильно используя их замечательные свойства.

Во-первых, во время установки фильтропатронов рекомендуется удостовериться в качестве уплотнения и герметичности фильтра. Чтобы лучше использовать преимущества контроля качества во время производства, полезно сохранять в специальной “книге производства” сертификаты, наклейки, прикрепленные к каждому используемому фильтропатрону.

Таким способом можно всегда удостовериться, что вы работаете с патроном требуемого типа, уровня фильтрации и качества.

Промывка фильтров

Перед началом фильтрации необходимо произвести промывку фильтрующих средств жидкостью, максимально близкой к фильтрату.

Так, для фильтрации альбумина в течение стадии IV мы воспользуемся для промывки 40%-ным раствором этанола, pH 6. В случае двойной фильтрации (марки 50S/LP или 60 S/LP и затем 90 S/LP) фильтры должны промываться раздельно.

Используемый для промывки фильтров объем берется обычно от 50 до 100 л на квадратный метр поверхности фильтра. Перед началом фильтрации полезно проверить качество промывки. Особенно важно удостовериться в низком уровне пирогенности промывной жидкости. Для этого рекомендуется пользоваться LAL-тестом. В случае, когда трудно или невозможно подобрать промывной раствор, рекомендуется рециркуляция первой порции фильтрата в течение 5-10 минут перед фильтрацией основной партии.

Контроль пирогенности

Использование материалов марок P или LP дает дополнительную гарантию в отношении отсутствия пирогенов. Материалы марки P проверяются на содержание пирогенов не более 50 ед/мл в промывной воде после промывки, эквивалентной 55 л/м^2. Материалы марок LP проверяются на содержание пирогенов не более 25 ед/мл после промывки, эквивалентной 55 л/м^2.

М атериалы марки LP не дают ложно-“позитивных” результатов LAL-теста. Во время фильтрации фракций альбумина или гаммаглобулинов следует, во избежание возникновения трудностей, соблюдать ряд правил.

Возможные проблемы

Наиболее частая проблема - это снижение пропускной способности в процессе фильтрации. В большинстве случаев причины этого явления - следующие:

- слишком большой поток продукта через фильтр, вызывающий образование на поверхности фильтра слоя, блокирующего поры на поверхности материала. (не следует давать на фильтр более 100-120 л/час/м^2, помните, что снижение потока вдвое через единицу площади может в 2-3 раза увеличить ресурс фильтра по общему объему фильтрованного продукта),
- дефект при центрифугировании,
- pH фильтрата отличается от pH раствора для промывки.

Во всех случаях важно удостовериться, что разность давлений не слишком велика. В противном случае это снижает эффективность удаления загрязнений.

Рекомендуется также промывка патронов Зета Плюс после фильтрации, чтобы максимально снизить массу белка, остающегося в толще материала.

Для этого используется раствор этанола той же концентрации, что и раствор, подлежащий фильтрации. 40-50 литров на квадратный метр позволяют достичь того, чтобы потери не превышали 1%. Фильтр всегда можно освободить от фильтруемого продукта с помощью инертного газа при слабом давлении (0,5 бар).

Наконец, как всякое оборудование из нержавеющей стали, полезно промывать корпус фильтра, деталь за деталью, в ванне с разбавленной кислотой, не слишком едкой (азотная кислота). Затем после промывки водой - в щелочной ванне, а затем в чистой воде. После этого промыть потоком воды и сушить на фильтрованном воздухе при 45°C.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Преимущества фильтрующего средства Зета Плюс

- Средство без асбестового волокна
- Сорбционная емкость выше, чем у асбестовых фильтров
- Большая способность к адсорбции коллоидных частиц и бактерий
- Низкая сорбционная активность в отношении белков крови
- Механическая прочность в несколько раз выше, чем у фильтрокартонов и асбестовых материалов
- Высокая способность к удержанию загрязнителей при очень хорошей пропускной способности
- Широкий выбор материала фармацевтических квалификаций, проверенных в течение многих лет ведущими предприятиями службы крови России

- Высочайший уровень контроля качества партий сырья и полупродуктов на всех этапах производства. Производство имеет международный сертификат качества ISO 9002
- Средство зарегистрировано Минздравом РФ как материал, разрешенный к работе с инфузионными растворами и препаратами крови
- Разработанность технологических рекомендаций для стандартных процедур фракционирования

Преимущества держателей Зета Плюс

- Отсутствие утечки, герметичность
- Малые габариты
- Легкое оборудование, пригодное к использованию на тележке
- Простая и быстрая установка элементов
- Простая и быстрая санитарная обработка
- Малые потери фильтрата
- Широкий выбор аппаратов разной производительности
- Удовлетворяют требованиям GMP

НОВЫЕ МАТЕРИАЛЫ СЕМЕЙСТВА ЗЕТА ПЛЮС

Свидетельством научно-технического поиска и развития фирмы CUNO является постоянное пополнение уже обширного семейства материалов Зета Плюс все новыми, интересными для производственников разработками.

Среди таких новшеств - материал **Delipid** (Делипид)**,** предназначенный для удаления липидов из биопрепаратов за счет высокого сродства специальных добавок фильтрующей среды к липидам и их сорбции на фильтре**.**

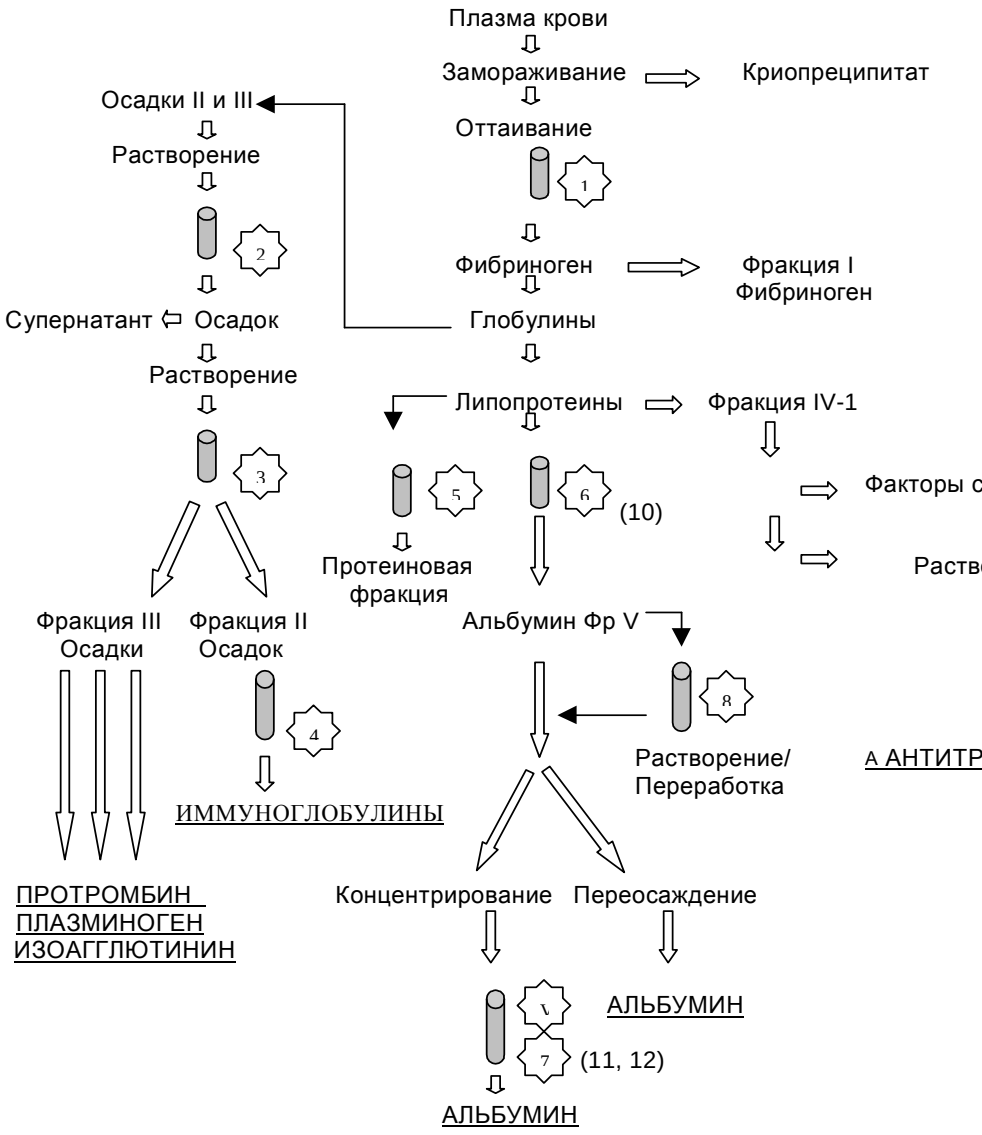
Zetacarbon (Зетакарбон) – другой материал, производный от Зета Плюс. Он содержит различные марки высококачественных активированных углей в качестве добавочных наполнителей к основной формуле фильтрующего материала. Несколько типов активированных углей, используемых для разных марок Зетакарбона, позволяют подобрать необходимый материал для обесцвечивания препаратов (снижения содержания гемипигмента), удаления пирогенов из задержанных по их высокому содержанию партий препаратов и так далее.

Хорошо зарекомендовал себя для удаления пирогенных компонентов из водных растворов и воды материал **Зета Плюс марки ZA**, обладающий форсированной сорбционной способностью в отношении пирогенов.

Одной из последних разработок является материал **Зета Плюс марки VR** – материал, разработанный и применяемый для радикального снижения содержания вирусов в препаратах крови и биотехнологических продуктах. Сорбционные свойства этого материала в отношении вирусов позволяют использовать глубинную фильтрацию как дополнительный технологический прием, обеспечивающий общий высокий уровень вирусной безопасности препаратов.

Подробную информацию по каждому из перечисленных фильтров, выпускаемых в тех же формах, что и Зета Плюс LP (патроны, пластины, капсюли Биокап), мы вышлем Вам по дополнительному запросу.

Основные применения фильтров CUNO при фракционировании плазмы крови человека по Кону



1 Зета Плюс 01LP, 05S, 05SP
Полинет
Бетафайн XL

2 Зета Плюс 60SP, 30SP, 50LP
TSM

3 Зета Плюс 90SP

4 Зета Плюс 90LA

5 Зета Плюс 90LP

6 Зета Плюс 60LP

7 Зета Плюс 90LP

8 Зета Плюс 90LP

9 Delipid

10 Zetacarbon

11 PolyProXL
LifeASSURE
Зета ПлюсVR
BioLIFE

12 Zetapor020SP
SterASSURE
BioASSURE