

## Seguridad viral de la pasteurización de la albúmina 20 % con la autoclave pasteurizadora fedegari

Noa-Romero E<sup>1</sup>, Roque-Spengler L<sup>2</sup>, Enríquez-Puertas JM<sup>1</sup>, Sánchez-Gallardo L<sup>2</sup>, Carrillo-Cabrera D<sup>2</sup>, Dubed-Echevarría M<sup>1</sup>, Ramírez-Pérez Y<sup>1</sup>, Pérez-Guevara MT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Investigaciones del SIDA Mayabeque; <sup>2</sup> Empresa de Sueros y Productos Hemoderivados "Adalberto Pesant", La Habana, Cuba

Email: enrnoa@infomed.sld.cu

### RESUMEN

Los derivados de la sangre en Cuba están sometidos a la mejora continua de la calidad, como parte del mismo la Empresa de Sueros y Productos Hemoderivados "Adalberto Pesant" incorporó en el proceso de producción de la albúmina humana un pasteurizador con un principio de esterilización por mezcla de aire-vapor con microprocesador-esterilizador completamente automatizado de la firma FEDEGARI. En este trabajo se presentan los resultados de la validación viral del proceso de pasteurización de la albúmina humana al 20 % con el pasteurizador FEDEGARI. El volumen correspondiente a cinco frascos de albúmina (tres lotes diferentes) se retaron con altas dosis infecciosas de virus con resistencia moderada a alta a métodos de inactivación físicos-químicos. Los frascos se colocaron en los puntos críticos del pasteurizador y se sometieron a tratamiento de 60°C durante 10 horas. La robustez del proceso de pasteurización se desafió con interrupciones a diferentes tiempos del proceso de pasteurización. Para cada modelo viral se confeccionaron los gráficos de supervivencia, mediante el cálculo del tiempo de reducción decimal (DT) para los procesos de pasteurización (con y sin interrupción). El DT para cada modelo viral no mostró diferencias para los procesos de pasteurización con y sin interrupciones. Los FR aportados para todos los modelos virales en el proceso de pasteurización sin interrupción fue mayor de 4 log (*virus ARN envueltos*: VDVB 5,86 log; *virus ARN no envueltos*: EMC 5,97 log / Reo-3 5,23 log; *virus ADN no envueltos*: Adeno-7 5,58 log / PVM 4,41 log) que le confiere una adecuada seguridad para la inactivación de virus con un amplio rango de resistencia a los métodos de inactivación. El proceso de pasteurización de la albúmina

humana al 20 % con la autoclave pasteurizadora FEDEGARI es efectivo para los modelos virales estudiados y no afectó la seguridad del producto biológico.

**Palabras clave:** albúmina, pasteurización, autoclave pasteurizadora fedegari, validación viral, seguridad

## INTRODUCCIÓN

El proceso de producción de la albúmina humana establecido en la Planta Productora de Hemoderivados "Aristides Viera" ha mostrado una alta eficacia en la inactivación de los posibles contaminantes virales de la fuente de materia prima, como se ha demostrado en los estudios de validación viral que se han desarrollado<sup>1</sup>. En los mismos se ha evidenciado que la etapa de pasteurización incorporada en el proceso de producción de este hemoderivado es capaz de inactivar un amplio rango de modelos virales, con variada resistencia a los métodos de inactivación físicos y químicos, aportando un adecuado margen de seguridad. En la mejora continua como parte del programa de aseguramiento de la calidad del proceso de producción de la albúmina humana, se realizó el cambio del pasteurizador con un principio diferente, específico para este proceso; la autoclave FEDEGARI modelo FOA3/A NF NA1338A. El cual es un equipo de esterilización de mezcla aire-vapor con microprocesador-controlador completamente automatizado.

En las guías de las agencias regulatorias se recoge: "...cuando en los procesos de producción se realizan cambios tecnológicos que pueden afectar la seguridad o integridad de un producto biológico, se deben realizar todos los ensayos necesarios para demostrar que estos aspectos no sufren variaciones relacionados a los cambios realizados". Entre los estudios necesarios está corroborar que la capacidad de aclaramiento viral de los procesos de producción validados, se mantiene en los niveles demostrados o si hay alguna variabilidad que pone en riesgo la seguridad del producto biológico<sup>2,3</sup>.

## OBJETIVO

*General:* Validar el proceso de pasteurización de la Albúmina humana al 20% con la autoclave pasteurizadora FEDEGARI.

*Específicos:*

- Determinar la capacidad de inactivación viral de la pasteurización de la albúmina humana con la autoclave pasteurizadora FEDEGARI.
- Confeccionar los gráficos de supervivencia de los virus durante la pasteurización de la albúmina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El volumen correspondiente a cinco frascos de albúmina (tres lotes diferentes) se retaron con altas dosis infecciosas de modelos virales no específicos, que presentan un amplio rango de propiedades físico-químicas y moderadas a muy alta resistencia a los métodos de aclaramiento viral: VDVB: virus de la diarrea viral bovina; EMC: virus de la encefalomiocarditis porcina; Reo-3: Reovirus humano tipo 3; Adeno 7: adenovirus humano tipo 7; PVM: Parvovirus murino. Los frascos se colocaron en los puntos críticos del pasteurizador y se sometieron a tratamiento de 60°C durante 10 horas y posteriormente fueron sometidos al tratamiento térmico a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 14 días. La robustez del proceso de pasteurización se desafió con interrupciones a diferentes tiempos del proceso de pasteurización (una y dos interrupciones).

Para cada modelo viral se calculó el factor de reducción (FR) y se confeccionaron los gráficos de supervivencia, mediante el cálculo del tiempo de reducción decimal (DT) para los procesos de pasteurización (con y sin interrupción). De acuerdo a los logaritmos de reducción viral que aportó la etapa de pasteurización esta se clasificó como:

- *Etapa Efectiva:* Si se logró un FR de al menos 4 log y no se ve afectada por las interrupciones del proceso de pasteurización.
- *Etapa Moderadamente Efectiva:* Aportó un FR entre 1 a 4 log
- *Etapa Inefectiva:* Provee un factor de reducción menor de 1 log.

## RESULTADOS

En los frascos de albúmina sometidos al proceso de pasteurización no se cuantificó virus residual para el VDVB, mientras para los virus no envueltos, se cuantificó virus residual al menos en un frasco, al nivel del límite de detección del sistema. Teniendo en cuenta los resultados anteriores se puede concluir que el proceso de pasteurización de la albúmina humana al 20% con la autoclave pasteurizadora FEDEGARI es *efectivo* para el modelo de virus ARN envuelto y *moderadamente efectivo* para los modelos virales ARN y ADN no envueltos. La carga viral residual para los virus no envueltos es inactivada durante el tratamiento térmico a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 14 días, con excepción del parvovirus murino.

El comportamiento de los modelos virales estuvo relacionado con la mayor o menor resistencia a los métodos de inactivación. La inactivación viral no es una reacción simple de primer orden, comportándose muchas veces con una fase inicial de caída rápida del título viral seguida por una lenta. Una reducción drástica en la velocidad de inactivación con el tiempo puede sugerir una disminución de la efectividad del método de inactivación o que una fracción viral es resistente, lo que implica que este no es altamente efectivo ni robusto<sup>1-3</sup>.

Los modelos virales tuvieron un comportamiento muy similar en los procesos con interrupciones, aunque sin diferencias en el tiempo de reducción decimal, se detectó carga viral residual en un mayor número de frascos. Está demostrado que interrupciones durante el proceso de pasteurización de la albúmina pueden provocar formaciones de agregados o desnaturalización de proteínas, que contribuirían a un aumento de impurezas o a la agregación de proteínas. La formación de agregados durante la pasteurización de la albúmina puede ocasionar que las especies de proteínas termolábiles desencadenen un aumento de la agregación de proteínas más estables, entre ellas la seroalbúmina, lo cual contribuiría a la estabilidad de los virus que pudieran estar en la preparación y que la capacidad de inactivación viral de la etapa se viera afectada<sup>4,5</sup>.

La literatura recoge que cuando ocurren desviaciones de parámetros de los procesos de producción de biológicos (concentración de proteínas, pH, temperatura) pueden existir modificaciones de la capacidad de aclaramiento viral de los métodos de inactivación empleados y reducción de los niveles de inactivación viral. En estos casos se deben diseñar estudios que

permitan identificar los parámetros operacionales críticos y corregir las desviaciones o valores de aclaramiento viral óptimos<sup>2,4,5</sup>.

Los resultados obtenidos corroboran lo reportado por nuestro grupo de trabajo al validar la capacidad de inactivación viral del proceso de pasteurización de las albúminas al 20 y 25%, empleando un pasteurizador basado en el principio de calor húmedo, donde la inactivación de los modelos de virus no envueltos se alcanzó posterior a las cuatros horas de tratamiento a 60°C<sup>1</sup>.

El FR aportados para todos los modelos virales en el proceso de pasteurización sin interrupción fue mayor de 4 log (virus ARN envueltos: VDVB 5,86 log; virus ARN no *envueltos*: EMC 5,97 log / Reo-3 5,23 log; *virus ADN no envueltos*: Adeno-7 5,58 log / PVM 4,41 log) que le confiere una adecuada seguridad para la inactivación de virus con un amplio rango de resistencia a los métodos de inactivación.

## CONCLUSIONES

- La capacidad de inactivación viral de la etapa de pasteurización de la albúmina con la autoclave FEDEGARI no se ve afectada por interrupciones durante el proceso.
- La etapa de tratamiento térmico aporta valores de inactivación viral que elevan el nivel de seguridad de la albúmina humana al 20 %.
- El FR aportados para todos los modelos virales en el proceso de pasteurización le confiere a la albúmina humana al 20 % una adecuada seguridad.

## BIBLIOGRAFÍAS

1. Dubed M, Noa E, Ramírez AT, Sánchez Y, Navea L, Lobaina L, Álvarez G. Validación de la capacidad del proceso de pasteurización de la albúmina humana para inactivar virus. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2011; 27 (3): 333-41
2. Blümel J. Viral Safety Perspective from the Paul-Ehrlich-Institut in Europe. PDA J Pharm Sci and Tech 2014; 68: 11-2

3. Sánchez Y; Noa E; Alfonso W; Dubed M; Navea L; Montes N; Lobaina L; Díaz E. Safety of the production process of SURFACEN® to inactivate and remove virus. *Biologicals* 2013; 41: 254-60
4. Sheets R; Loewer J; Raychaudhuri G; Petricciani J. Adventitious agents, new technology, and risk assessment, 19-20 May 2011, Baltimore, MD. *Biologicals* 2012; 40: 162-7.
5. Dichtelmüller HO, Flechsig E, Sananes F, Kretschmar M, Dougherty CJ. Effective virus inactivation and removal by steps of Biotest Pharmaceuticals IGIV production process. *Res Immunol.* 2012; 2: 19–24