

静注人免疫球蛋白(pH4)低pH病毒灭活温度自动化控制系统的验证

杨福军 勾洋梅 成 魁 尹云云 祁 军 陈桂珍 雷晨瑶 刘 晓[△]

兰州兰生血液制品有限公司 甘肃兰州 730046

【摘要】目的 验证和评价组合空调在静注人免疫球蛋白(pH4)低pH病毒灭活温度控制效果。**方法** 通过对低pH病毒灭活间进行热分布测试和停电保温试验,同时监测连续生产的3批人免疫球蛋白原液制品罐平均温度变化,考察组合空调的温度控制效果。**结果** 热分布测试结果显示,房间温度能持续稳定在 $24.2\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 。期间进行开关门干扰测试,受环境温度影响,放热间温度下降,但机组能够在短时间内恢复室温,对病毒灭活温度无影响;机组断电后房间温度在要求范围内能够保持40min以上。同时连续生产的3批静注人免疫球蛋白(pH4)制品罐平均温度满足低pH病毒灭活的条件。**结论** 组合空调可有效、精确的调控静注人免疫球蛋白(pH4)低pH病毒灭活温度,实现了自动化监控温度,极大的提升了病毒灭活系统的运行及灭活病毒的可靠性、有效性。

【关键词】 组合空调; 静注人免疫球蛋白(pH4); 低pH病毒灭活; 温度控制

【中图分类号】 R722.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-0415 (2020) 10-209-02

静注人免疫球蛋白(pH4)系由健康人血浆,经低温乙醇蛋白分离法分离纯化,去除抗补体活性并经病毒去除和灭活处理制成,临床上主要用于原发性/继发性免疫球蛋白缺乏症、自身免疫性疾病等,在治疗感染性疾病和免疫调节中发挥着不可替代的作用^[1]。《血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则》(国药监注[2002]160号)中指出,为了提高血液制品安全性,生产工艺要具有一定的去除/灭活部分病毒能力,生产过程中应有特定的去除/灭活病毒方法,对于免疫球蛋白类制品,生产过程中应有特定的灭活脂包膜病毒方法,但从进一步提高这类制品安全性考虑,提倡生产过程中加入特定的针对非脂包膜病毒的去除/灭活方法^[2]。中国血液制品生产厂家中广泛应用低pH孵放法(pH4.0 $\pm$ 0.2,温度 $24\pm 1.0^{\circ}\text{C}$,孵放21天)对静注人免疫球蛋白(pH4)进行病毒灭活。国内血液制品厂家低pH病毒灭活控温装置一种为移动罐装入产品采用病毒灭活房间控温,一种为灭活罐装入制品采用灭活罐夹层控温方式。兰州兰生血液制品有限公司采用移动罐装入产品采用病毒灭活房间控温的方式进行静注人免疫球蛋白(pH4)的低pH病毒灭活。

1 材料与方法

1.1 设施设备

1.1.1 组合式空调机组

组合式空调机组,又称蒸发式降温新风机组,是一种空调降温设备,购自江苏尚佳空调有限公司。通过将水蒸发与简单可靠的排风系统相结合来产生降温效果,主要组成包括:断桥保温框架结构箱体,该断桥结构铝合金骨架加装三明治保温面板,内外板均双面彩涂钢板,中间为发泡保温层;不锈钢坡形干式结构凝结水盘,可停机排尽冷媒,防止细菌滋生,延长设备腐蚀耐久性。

空调器电加热采用梯级控制,分4阶段控制,分别为4KW\3KW\1KW\1KW。第4级4KW和第3级3KW为室内初次启动时升温使用,第1级1KW和第2级1KW为温度精控时的微调加热使用。微调时启动第1级调节,若第1级损坏没有升温,自动立即启动第2级来控制,此两级形成一用一备方式确保房间恒温温度。所有加热管选用翅片散热型,具备良好散热功能。

1.1.2 液槽高效过滤器

主要用于房间温差控制。采用6个液槽密封无隔板高效过滤器均匀布置,风口送风量一致,均为 $260\text{m}^3/\text{h}$ 风量,风流向均匀,促使房间恒温风满覆盖,且保证房间洁净级别。通过调节每个回风口的手动风阀,促使风向均匀回出房间,有效控制房间温差。

1.1.3 无蜗壳风机

风机是系统核心部件,送风机由变频器控制,可实现风机的

软启动和软停机,对风机有效保护,延长寿命。风机配置1800-2000风量,大于房间使用的1500风量,变频器可有效控制风机送风量,保持风量余量,保护房间壁板门窗及制药设备。送风主管安装压差传感器,可实现与风机连锁,也直观判断风机状态,对送风安全多层保护。

1.1.4 工业冷水机

采用冷冻水为冷源进空调表冷降温方式运行,冷冻水的冷源来自两台小型工业冷冻水机,制冷量为8.7KW,两台自动交替使用方式运行。 7°C 冷冻水可满足温度缓降控制要求,温控精度好。因为采用 7°C 降温介质,空调表冷满足零上永不结冰要求,杜绝温度失控危险。冷冻水使用乙二醇溶液,冰点 -35°C ,防止冬天冷介质结冰。

1.2 控制系统

1.2.1 温度控制

温度控制功能主要用于对低pH病毒灭活间进行温度可控制的送风操作,要求温度为 $24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$,控制精度为 $24^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。设定低pH病毒灭活间温度,启动空调系统温度控制后,为保证温度恒定,空调系统延时启动送风机,根据设定温度及检测房间温度,按照控制参数设定根据需要开启电加热或者制冷机。自动控制按照设置的参数,执行事先设计的逻辑,控制各阀门的动作(注:电加热和制冷机不会同时运行)。温度控制关闭后,首先关闭电加热或制冷机,延时关闭送风机,延时结束后关闭制冷阀。

机组分离配合控制,当采集到的房间平均温度大于设定温度至一定条件时,制冷系统启动,冷媒循环系统迅速运转降低循环风温度以调整房间温度至理性条件,当采集到的房间平均温度小于设定温度至一定条件时,四段翅片式电加热系统根据超温范围阶梯式启动,升高循环风温度以调整房间温度至理性条件。

1.2.2 气流控制

为保证低pH病毒灭活间洁净级别要求,采用无蜗壳风机经初、中、高效空气过滤器实现室内外新风自循环,房间内采用风流上送下回的方式,循环风流动经初效过滤器至制冷、制热机组、中效过滤器,再到房间内自上而下至高效过滤器进风口,继而回到机组箱内,实现了冷热新风交替循环。根据房间容积大小,调节无蜗壳风机功率及回风口大小,保证房间送回风量及压差达到洁净厂房要求,同时送风口多向设置,保证风向向四周均匀扩散,温度均一稳定。

1.2.3 数据传输

房间内设置四支Pt电阻温度记录仪,采集房间四周不同点温度并自动计算温差及平均温度。采用可组态的人机操作界面实现现场操作,采用无硬盘操作系统固化的现场人机界面,保证现场操作的可靠性;操作站采用软件下载,实现操作界面的可重构性。系统采用PC(监视记录)+HMI+PLC的控制方式,可在液晶触摸屏

作者简介: 杨福军,男,高级工程师,从事血液制品质量管理工作。
[△]通讯作者: 刘晓,男,硕士研究生,从事血液制品科研和质量管理工作。

界面上,实现系统的数据监测和存储,PLC 程序和数据存储在 MMC 卡中,断电时程序和数据也不会丢失。液晶触摸屏上设主界面、位号显示、系统功能、自动控制、系统标定、设备单控、报警历史,在各自权限下可通过界面切换进入对应的界面进行查看相关信息并进行对应权限的操作。

1.2.4 验证设备

EBI 1-T 无线温度记录器(上出针)购自 Ebro 公司。通过无线技术实现实时监控空间内的温度,利用软件 and 智能平台,同时快速读取 4 个记录器的数据,自动生成验证报告。

1.3 方法

1.3.1 低 pH 病毒灭活间热分布测试

热分布测试主要用于验证病毒灭活间温度分布的均一性和偏差度。房间空载条件下,根据低 pH 病毒灭活罐实际大小设定 Ebro 自动温度记录仪放置位置,在房间前、中、后三段,分上下层放置 12 只 Ebro 自动温度记录仪。各 Ebro 自动温度记录仪记录 24 小时,期间进行一段时间的开门干扰测试,以检测受环境降温后的空调系统反应情况,放置位置如图 1 所示。完成记录后,使用 Ebro 专用读写器将 Ebro 自动温度记录仪记录的试验数据采集到计算机内,用专用软件分析温度测试结果。

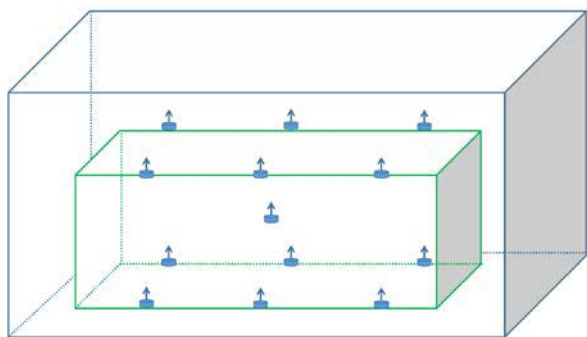


图 1: Ebro 自动温度记录仪放置位置

1.3.2 低 pH 病毒灭活间停电保温试验

低 pH 病毒灭活间周围环境温度 $8\sim 15^{\circ}\text{C}$,通过对低 pH 病毒灭活间空调系统作停电处理,以测试低 pH 病毒灭活间在空调系统停止运行后的保温效果,是否满足病毒灭活间中的制品温度相关要求。

在空载运行状态下,在低 pH 病毒灭活间中放入 13 个 Ebro 自动温度记录仪,放置位置如图 2 所示。进行停电试验,各 Ebro 自动温度记录仪记录 70min,每 30s 记录一次。程序完成后,使用 Ebro 专用读写器将 Ebro 自动温度记录仪记录的试验数据采集到计算机内,用专用软件分析温度测试结果。

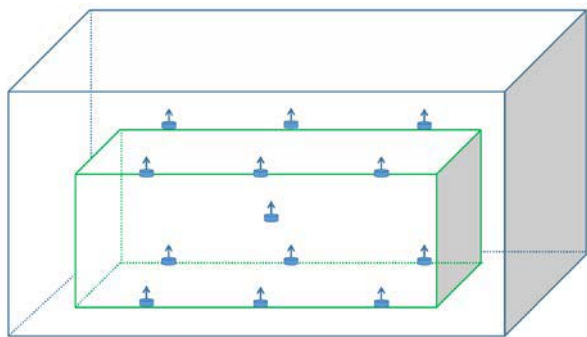


图 2: Ebro 自动温度记录仪放置位置

1.3.3 实际应用

设定病毒灭活间温度在 24.3°C ,根据工艺规程,制品经过超滤纯化,并阶段性升温至 24.5°C 左右进行一次除菌处理后,转

入低 pH 病毒灭活间进行病毒灭活,灭活时间 ≥ 21 天。受环境温度影响,转入低 pH 病毒灭活间时制品温度一般在 $23\pm 0.2^{\circ}\text{C}$,自转入开始每天分别记录温度变化状态。本文连续跟踪三批制品(A、B、C)温度变化情况,每批两罐,每罐体积约 200L。

2 结果

2.1 低 pH 病毒灭活间热分布测试结果

对低 pH 病毒灭活间进行热分布测试,温度记录结果显示:在 24 小时内房间温度稳定在 $24.2\pm 0.2^{\circ}\text{C}$,开门干扰一定时间后,房间温度经过系统自我调节后,可迅速回温。

2.2 低 pH 病毒灭活间停电保温试验结果

低 pH 病毒灭活间温度保持在 $24.2\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 一段时间后,断电使空调系统停止运行,温度记录结果显示:在空调系统停止运行后,经过 42min 后,房间温度下降至 23.0°C ,观察试验罐水温未见明显变化。温度在病毒灭活要求范围内。

3 讨论

应用于静注人免疫球蛋白(human intravenous immunoglobulin, IVIG)的病毒灭活方法很多,如低 pH 释放法、巴氏灭活法、有机溶剂结合表面活性剂(S/D 法)、纳米膜过滤法等^[3]。相比较而言,低 pH 释放病毒灭活法更易实现程序化、规模化及单元化控制,操作也相对简便、经济、实用,同时该法对静注人免疫球蛋白纯度具有较好的改善作用^[4],是一种安全有效、经典可靠的病毒灭活方法。低 pH 释放法对脂包膜病毒的灭活作用已得到充分肯定,但其灭活效果受 pH 值、温度、时间、离子强度以及稳定剂浓度的影响而波动,采用单一方法容易造成上述参数的掌握失控而影响病毒灭活效果^[5]。研究表明,在病毒灭活过程中,影响因素包括 pH、温度及释放时间,各因素对灭活的影响大小顺序依次为: pH > 温度 > 释放时间,其中温度和释放时间之间存在交互作用^[6]。因此,在 pH 一定的情况下,温度成为病毒灭活效果的关键性因素,如何保证温度在有限范围内持续稳定 21 天以上成为难题。

本文采用空调组合方式能满足低 pH 病毒灭活的温度条件需求。在验证阶段,经过 24h 温度监测,房间温度能持续稳定在 $24.2\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 。期间进行开关门干扰测试,受环境温度影响,放热间温度下降,但机组能够在短时间内恢复室温,对病毒灭活温度无影响;机组断电后房间温度在要求范围内能够保持 40min 以上。同时连续生产的 3 批人免疫球蛋白原液制品罐平均温度满足低 pH 病毒灭活的条件。综上所述,该组合空调在设计、安装、调试及实际应用中均符合 GMP 要求及相关法律法规的要求,环保节能,确保了产品品温稳定、安全、可靠、有效调控,减少人为干预,全面实现了自动化监控温度,极大的提升了病毒灭活系统的运行及灭活病毒的可靠性、有效性。

参考文献

- [1] 王剑锋, 英志芳, 徐康维等. 两种低 pH 释放法灭活静注人免疫球蛋白中脂包膜病毒效果比较 [J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 32(08):919-922.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 《血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则》. (2002-05-09)
- [3] 陈柯君, 李健. 血液制品病毒灭活的研究进展 [J]. 中国消毒学杂志, 2017, 34(02):166-171.
- [4] 郭中平, 张玉蓉, 江砚芳. 低 pH 释放对静注免疫球蛋白纯度的改善 [J]. 中国输血杂志, 2001(04):245-246.
- [5] 王焰, 郑朝共, 容新宗. S/D 法和低 pH 释放法在富含 IgM 免疫球蛋白中脂包膜病毒的灭活研究 [J]. 中国输血杂志, 2013, 26(07):635-637.
- [6] 马荣. 低 pH 释放法灭活生物制品中异嗜性小鼠白血病病毒的方法学研究 [D]. 中国中医科学院, 2013.