

某型滤器对静注人免疫球蛋白 IgA 去除效果的研究

刘 晓^{1*} 王 巍^{2*} 韩祥东¹ 李毅杰¹ 张齐明¹ 张安山¹ 陈桂珍¹ 刘晓宇^{1^}

1 兰州兰生血液制品有限公司 2 甘肃省药品检验研究院 甘肃兰州 730046

【摘要】目的 研究降低静注人免疫球蛋白 (pH4) IgA 残留量的方法。**方法** 选取连续三批生产静注人免疫球蛋白 (pH4) (批次 A、B、C) 进行实验。F II 沉淀溶解液澄清过滤后的中间品进行 Emphaze™ AEX 过滤器过滤, 作为实验组。对滤前后中间品 IgA 残留量进行测定, 并且选取连续生产的三批未经 Emphaze™ AEX 过滤静注人免疫球蛋白 (pH4) 作为对照组, 比较实验组和对照组生产的产品 IgA 残留量、分子大小分布、抗补体活性、纯度等主要质量指标情况。**结果** 实验组三个批次 (A、B、C) 过滤前后 IgA 含量下降了 74.9%, 过滤前后平均蛋白损失为 4.48%。与对照组相比成品中 IgA 含量下降了 48.7%, 其他产质量指标与对照组 (批次 D、E、F) 相比均无统计学意义。**结论** F II 沉淀溶解液澄清过滤后的中间品进行 Emphaze™ AEX 过滤可有效降低成品中 IgA 残留量, 成品其他主要质量指标无明显变化, 蛋白收获率会降低。

【关键词】 静注人免疫球蛋白; IgA 残留量; 过滤

【中图分类号】 R973

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-4083 (2021) 02-038-02

静注人免疫球蛋白 (pH4) 是由至少 1000 名健康献血者血浆中提取的免疫球蛋白, 经低温乙醇蛋白分离法分离纯化, 去除抗补体活性并经 pH4.00±0.20、24±1℃、21 天病毒灭活处理制成。临床上用于原发性免疫球蛋白缺乏症 (如 X 连锁低免疫球蛋白血症, 常见变异免疫缺陷病, 免疫球蛋白 G 亚型缺陷病等)、继发性免疫球蛋白缺陷病 (如重症感染, 新生儿败血症等)、自身免疫性疾病 (如原发性血小板减少性紫癜, 川崎病) 的治疗^[1]。静注人免疫球蛋白 (pH4) 中的 IgA 在实际临床应用中具有两面性, 既有引发过敏反应地风险, 亦有临床实际效果^[2]。为进一步降低静注人免疫球蛋白 (pH4) 残留量水平, 本研究采用 F II 沉淀溶解液澄清过滤后的中间品进行 Emphaze™ AEX 过滤试验, 考察 Emphaze™ AEX 滤芯 IgA 残留量的降低作用和产品主要质量指标情况。

1 材料与方法

1.1 材料

静注人免疫球蛋白 (pH4) FII 沉淀溶解液中间品由兰州兰生血液制品有限公司生产; Emphaze™ AEX 滤芯均购自 3M 公司。

1.2 方法

选取连续生产的三批 F II 沉淀溶解液澄清过滤后中间品用 Emphaze™ AEX 滤芯进行过滤, 批号分别为 A、B、C。过滤过程中, 每过滤 100kg FII 沉淀溶解液取样测定 IgA 含量, 研究 Emphaze™ AEX 滤芯对 IgA 吸附趋势。同时对对滤前后中间品 IgA 含量进行测定, 对比过滤前后 IgA 含量变化。并且选取三批未经 Emphaze™ AEX 过滤生产的静注人免疫球蛋白 (pH4) 作为对照组, 批号为 D、E、F。比较实验组和对照组产品的分子大小分布、抗补体活性、纯度、IgA 残留量等主要质量指标情况。

1.3 检验方法

IgA 残留量测定采用酶联免疫吸附法, 按照《中国药典》(2020 版) 四部通则 3428 进行; 分子大小分布测定采用分子排阻高效液相色谱法。具体操作过程和结果分析按照《中国药典》(2020 版) 四部通则 3122 进行; 纯度采用醋酸纤维素薄膜电泳法进行测定, 测定和结果分析按照《中国药典》(2020

版) 四部通则 0541 第二法进行; 抗补体活性按照《中国药典》(2020 版) 四部通则 3410 进行。

1.4 统计学分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件进行数据分析, 采用 t 检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Emphaze™ AEX 滤芯过滤过程中 IgA 含量检测结果

分别对三个批次 (A、B、C) 中间品过滤过程中每过滤 100kg 过滤液进行取样, 测出过滤液中 IgA 含量。每过滤 100kg 三个批次 (A、B、C) 滤液中 IgA 含量均有所上升 (见表 1)。三批次 (A、B、C) 过滤前后 IgA 含量进行统计学分析, IgA 衰减量分别为, 批次 A: 77.4%、批次 B: 70.8%、批次 C: 76.4%、平均下降了 74.9%, 且差异具有显著统计学意义 (P < 0.05) 见表 2。

表 1: 过滤过程过滤液中 IgA 含量结果

取样点 (过滤液量) (kg)	滤过液 IgA 含量 (μg/ml)		
	批次 A	批次 B	批次 C
100	0.98	0.71	0.871
200	3.75	0.47	10.42
300	4.76	11.36	31.56
400	9.81	71.33	53.68
500	22.32	75.25	72.71
600	23.94	77.93	97.21
700	30.55	118.00	109.14
800	47.85	153.93	161.16
900	72.43	140.92	243.15

2.2 Emphaze™ AEX 滤芯过滤前后总蛋白损失情况

对 Emphaze™ AEX 过滤前后总蛋白分析, 三批次总蛋白损失分别为 5.61%、1.29%、6.54%、平均下降了 4.48% (见表 3)。

表 3: 过滤前后免疫球蛋白收率的影响

批次	F II 沉淀溶解液总蛋白 (kg)	FII 澄清滤过液总蛋白 (kg)	过滤前后总蛋白差 (kg)	过滤前后总蛋白损失 %
A	28.66	27.05	1.61	5.61
B	29.33	28.95	0.38	1.29
C	29.59	27.68	1.91	6.54

2.3 Emphaze™ AEX 过滤对静注人免疫球蛋白 (pH4) 成品主要质量指标的影响

实验组和对照组的静注人免疫球蛋白 (pH4) 成品主要质量指标均符合《中国药典》三部 (2020 版) 相关要求。其中

作者简介: 刘晓, 男, 副研究员, 从事血液制品科研和质量管理工作。

王巍, 男, 主管药师, 从事血液制品检验工作。

▲通讯作者: 刘晓宇, 男, 高级工程师, 从事血液制品生产管理工作。

*w 为共同第一作者

实验组分子大小分布 ($P \geq 0.05$)、抗补体活性 ($P \geq 0.05$)、纯度 ($P \geq 0.05$) 主要质量指标与对照组相比差异不具有统计学意义。与对照组 (批次 D、E、F) 相比, 实验组成品 IgA 含量下降约 48.7%, 具有显著差异 ($P < 0.05$) 见表 4。

表 4: 实验组和对照组成品主要质量指标的比较

批次	分子大小 分布 (%)	抗补体 活性 (%)	纯度 (%)	成品 IgA 含量 ($\mu\text{g/ml}$)
A	99.2	15	99	41
B	99.2	15	99.2	116
C	98.8	26	98.8	144
平均值	99.07	18.67	99	100.33
D	97.8	22	99.2	178
E	98.3	19	99.2	192
F	99.2	10	99	217
平均值	98.43	17.00	99.13	195.67

3 讨论

随着血液制品在临床中的广泛应用, 临床溶血性输血反应已经比较少见, 而由于输注血浆成分导致的输血过敏反应越来越引起重视, 我国静注人免疫球蛋白大多经由低温乙醇工艺制成, 由于血浆中 IgG 和 IgA 的理化性质比较接近, 采用低温乙醇工艺无法针对性的去除 IgA。因此由低温乙醇所制备的静注人免疫球蛋白中普遍存在 IgA 偏高的情况, 经由低温乙醇沉淀蛋白分离法与柱层析工艺相结合的方法进行制备、纯化, 可有效提高静注人免疫球蛋白的纯度的同时降低免疫球蛋白中的 IgA 含量^[3]。

为进一步降低静注人免疫球蛋白 (pH4) 残留量水平, 本研究采用 F II 沉淀溶解液澄清过滤后的中间品进行 EmphazeTMAEX 过滤试验, 考察 EmphazeTMAEX 滤芯 IgA 残留

量的降低作用和产品主要质量指标情况。本研究表明在 F II 澄清过滤后, Emphaze™AEX 过滤可有效降低成品中 IgA 含量。Emphaze™AEX 滤芯吸附原理为聚丙烯过滤膜表面存在正电基团, 特定 pH 条件下可吸附带负电的 IgA。但从本次使用来看 Emphaze™AEX 滤芯对 IgA 的去除效果会随着过滤量的增加而减弱, 其聚丙烯过滤膜表面吸附 IgA 越多对 IgA 的去除效果也越差。应当选用适合面积的过滤膜进行过滤, IgA 吸附条件还与其他因素有关, 还有待进一步探讨。在本次实验中过滤前后平均蛋白损失为 4.48%, 且经过 Emphaze™AEX 滤芯未对静注人免疫球蛋白主要质量指标造成影响, 所有指标均符合《中国药典》三部 (2020 版) 相关要求, 且与对照组相比差异均不具有统计学意义。本研究对 F II 沉淀溶解液澄清过滤后的中间品进行 EmphazeTMAEX 过滤可有效降低成品中 IgA 残留量, 成品其他主要质量指标无明显变化, 蛋白收获率会降低, 为有效降低静注人免疫球蛋白 (pH4) 产品中 IgA 残留量提供了数据支持。

参考文献

[1] Deirdre D R ,Sarkoah FN. Intravenous immunoglobulin in the treatment of primary immunodeficiency diseases.Pediatr Ann,2017,46 (1) :8-12.

[2] Galeotti C,Kaveri SV,Bayry J. IVIG-mediated effector functions in autoimmune and inflammatory diseases.Int Immunol,2017,29 (11) :491-498.

[3] 张学成, 马小伟, 安文琪, 梁雪爽, 罗坚, 王承勳, 吴静娟, 李光飞. 阴离子交换层析处理对静注人免疫球蛋白 (pH4) 制品的影响[J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 32 (09) :1036-1042.

表 2: 过滤前后中间品 IgA 含量

批次	过滤前 IgA 含量 ($\mu\text{g/ml}$)	过滤后 IgA 含量 ($\mu\text{g/ml}$)	过滤速度 (L/min)	过滤温度 ($^{\circ}\text{C}$)	IgA 衰减量 (%)
A	189.44	42.80	5.4	3.5	77.4
B	315.24	92.20	5.8	3.4	70.8
C	377.57	123.11	5.7	3.4	67.4

(上接第 37 页)

分区域管理, 专人负责。还可通过电子问卷的形式, 定期意见反馈负责的医疗机构, 尽早解决出现频率较高的问题。其四, 增加采购急救、抢救药品的绿色通道。建立起紧缺药品储备库, 针对于常用药品的库存, 有关部门应当公开储备库联系方式, 制定下限提示, 通过固定的商业配送, 开通 24h 绿色通道, 保证医疗机构能够实现准时性供应^[5]。其五, 药品身份证制的制定。针对于不同规格、剂型、包装、通用名、商品名等, 积极按照其特殊性的特征, 制定固定编码, 坚持一药一码。同时按照固定编码, 医疗机构整理 HIS 系统填写出一样的编号, 通过应用计算机的方式, 在日后的中标替换、药品价格、医保调整时, 迅速筛选出需调整的目录, 对药品特有编码进行比对, 准确率高, 且节省人工筛选的时间^[6]。

此次研究中, 在落实药品网上集中采购中, 我市出现了包含频频出现停药、断药情况, 网络采购平台需改进, 无法保证全部药品的网上采购, 以及人工筛选困难、价格调整频繁等在内的。经本研究结果显示, 集中采购基于市场经济条件下, 成为药品采购的制度安排和组织形式, 坚持应用分工制衡、充分竞争的机制, 公开透明的采购原则, 促进

合理用药, 加强对医药购销中的商业贿赂的有效抑制, 便于患者分享集中采购的红利, 顺利落实好网上招标采购工作。

综上所述, 针对网上集中采购的药品, 通过归纳整理其中遇到的问题, 经实施相应的措施, 发现应当积极落实好药品的采购环节, 做好临床上的供应工作, 有极佳的应用价值。

参考文献

[1] 袁姣, 陈宇, 刘杨正, 等. 2013—2015 年湖北省二级及以上公立医院药品网上集中采购情况分析[J]. 中国药房, 2016, 27(31):4340-4343.

[2] 关辉, 颜鸿. 基层医疗机构网上药品集中采购工作的体会与建议[J]. 中国保健营养, 2017, 27(34):378.

[3] 李颖, 冀爱云, 师延峰. 药品集中网上采购工作的实践、问题与建议[J]. 中国药业, 2011, 20(6):4-5.

[4] 马真金. 浅谈药品网上集中招标采购执行过程中的困惑[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 03(15):394.

[5] 邹晓华, 闵宏, 陈明洁. 网上药品集中采购的方法探讨与应用[J]. 医疗卫生装备, 2011, 32(12):53-55.

[6] 赵殿龙. 以省为单位医院药品集中网上竞价采购的实践与思考[J]. 中国医院管理, 2007, 27(10):9-11.