

## · 药剂学进展 ·

## 人血白蛋白生产中热原的控制

江苏省无锡市中心血站(无锡 214021) 曾锡新 许清 刘晓

如何将人血白蛋白的热原污染控制在最低限度,一直是血浆蛋白生产中令人关心的问题,也是每个血浆蛋白制品生产者尽全力要达到的目标。但由于制品生产工序多,操作时间长,热原污染途径广泛,种类多,很难绝对避免热原的污染。因此,我们制品质检科除了按《中国生物制品制造及检定规程》<sup>[1]</sup>的要求进行质控外,为了减少热原污染,确保产品质量,增加了生产过程的监控点。主要从以下三方面来监控:(1)原料血浆和白蛋白半成品细菌总数的测定。(2)蒸馏水、生产器具和容器的细菌内毒素检查。(3)白蛋白半成品的细菌内毒素检查。经过这一系列工作,将质量控制贯穿了整个生产过程的始终,取得了较明显的效果。

## 材料和方法

## (一)材料

1. 被检样品 丹阳市血站提供的单采血浆;本站血制品室制备的白蛋白制品(利凡诺法)。

2. 营养琼脂 生物试剂 中国药品生

表 1 原料血浆和白蛋白半成品细菌总数与热原的关系

	热原合格		热原不合格	
	样品数	细菌总数(个/ml) ( $\bar{x} \pm S$ )	样品数	细菌总数(个/ml) ( $\bar{x} \pm S$ )
原料血浆	18	23 $\pm$ 3.9	2	235 $\pm$ 49.5
白蛋白半成品	10	1051 $\pm$ 361.2	4	4195 $\pm$ 436.7

内毒素是革兰氏阴性菌胞壁中的类脂多糖(LPS)成份,普遍存在于自然环境中,是一种药理活性极强的毒性反应物质。若血液制品污染了一定量的热原,均可发生热原反应。据资料统计:当原料血浆中所含细菌总数大

于 50 个/ml 时,由于内毒素的产生,使最终

制品的热原试验很难保证合格。这与我们的实验结果一致,见表 1。要想获得高质量的血浆蛋白制品对原料血浆质量的控制是一个不可忽视的因素。因此,我们加强了血袋的处理

物制品检定所。  
3. 内毒素工作标准品 厦门鲎试剂厂,规格为 10Eu/支(冻干品)。

4. 鲎试剂 厦门鲎试剂厂,灵敏度( $\lambda$ ) 0.0625Eu/ml 0.5Eu/ml。  
5. 器具 9cm 培养皿;1ml 微量注射器,配 6 号针头;10 $\times$ 75mm 试管若干支。以上器具使用前于烤箱中 180 $^{\circ}$ C 干烤 2h,去除热原。

## (二)方法

1. 细菌总数测定法<sup>[2]</sup>

2. 鲎试验法 采用半定量凝胶法<sup>[3]</sup>

3. 家兔热原试验 按《生物制品规程》<sup>[1]</sup>进行。

## 结果和讨论

1. 原料血浆按常规操作投料生产,搅拌均匀后,取样,做细菌总数测定;白蛋白按卫生部颁发的生产工艺进行生产,于 60 $^{\circ}$ C 加温 10h 之前,取样,做细菌总数测定。观察原料血浆和白蛋白半成品中细菌总数的量与热原的关系。结果见表 1

于 50 个/ml 时,由于内毒素的产生,使最终制品的热原试验很难保证合格。这与我们的实验结果一致,见表 1。要想获得高质量的血浆蛋白制品对原料血浆质量的控制是一个不可忽视的因素。因此,我们加强了血袋的处理

及无菌操作,使原料血浆的细菌总数控制在 $<50$ 个/ml。

正如前述,血浆蛋白制品生产工序多,操作时间长,如配料容器不干净,管道和滤器污染,操作技术不熟练等,都能带入大量的微生物。我们在1994年上半年生产中,940105、940224、940301、940309四批白蛋白半成品的细菌总数均达到4000个/ml,见表1。正因为蛋白制品中污染有大量细菌,再经 $60^{\circ}\text{C}$ 加温10h,菌体裂解,内毒素大量增加,致四批白蛋白热原不合格,造成经济上很大损失。我们及时采取有效措施:(1)在超滤后, $60^{\circ}\text{C}$ 加温前,用 $0.45\mu\text{m}\sim 0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜将白蛋白液体除菌过滤,去除细菌后,再 $50^{\circ}\text{C}$ 加温10h。(2)我们在制订、修改血浆蛋白制品规章制度、操作规程时,将原料血浆细菌总数( $<50$ 个/ml),白蛋白半成品细菌总数( $<1000$ 个/ml)的测定作为一项质控指标。通过以上措施,有效地减少了热原污染的机会,保证了产品的质量。

2. 血浆蛋白制品防止热原污染应从原料血浆、蒸馏水、药品、操作方法以及生产中各个环节的质量控制入手,才能彻底解决制品的热原污染问题。因此,我们对生产中使用的蒸馏水每天进行细菌内毒素检测,鲎试验合格后方能使用。生产中使用的投料罐、篮式离心机、板框滤器及储水容器等清洗完毕后,取样,做细菌内毒素检测。如鲎试验不合格,再重新清洗,直到鲎试验合格,才能进行下一步生产,以确保生产中每一步骤都尽可能在减少污染情况下进行。这样,虽增加了质检人员的工作量,但保证了产品的质量。

3. 鲎试验作为一种细菌内毒素的检测方法,具有灵敏度高、重复性好、操作简便、短时间内可做大量试验等优点。近年来发展十分迅速,已被美国药典和我国药典纳入法定的内毒素检查法<sup>[3][4]</sup>。我们将白蛋白半成品取样做鲎试验,按理论限值计算及多次试验,确定 $0.0167\text{Eu}/\text{mg}$ 为内毒素实际限值,即 $>$

$0.0167\text{Eu}/\text{mg}$ 为鲎试验不合格, $<0.0167\text{Eu}/\text{mg}$ 为鲎试验合格,此结果与文献报道一致<sup>[5]</sup>。结果见表2。

表2 鲎试验法与家兔法检测热原的比较

样品数	鲎试验法结果	家兔法结果
13	-	-
2	+	-

从表2结果看出,鲎试验法与家兔法两者总符合率达86%,与文献报道一致<sup>[6]</sup>。试验中有两批鲎试验法不合格,家兔法合格,说明鲎试验法较家兔法敏感。有文献报道,鲎试验法对于内毒素的检测至少要比家兔法敏感10倍<sup>[6][7]</sup>。通过试验尚未发现鲎试验合格而家兔法不合格的样品。当然,鲎试验法目前尚不能完全取代传统的家兔热原试验。但已有许多经验证明:采用鲎试验进行生产工艺流程中原材料、半成品的预检,并和家兔法互为补充作为成品质量的最后监测,这对于确保产品质量,减少废品的发生,是有积极意义的。

生产实践使我们充分认识到:必须将质量控制贯穿于整个生产过程的始终,严格执行《中国生物制品制造及检定规程》,为生产原料 $\rightarrow$ 半成品 $\rightarrow$ 成品每个环节制订出质检指标,层层把关,提高人的质量意识,才能生产出名符其实的优质产品。

#### 参考文献

- [1]中华人民共和国卫生部. 中国生物制品规程,一部,1990
- [2]卫生部药政局. 药品卫生检验方法,1984
- [3]中华人民共和国卫生部. 细菌内毒素检查法,WS<sub>1</sub>-363(B-122)-91
- [4]美国药典(USP),21版,1165
- [5]胡可可,等. 人血白蛋白细菌内毒素的检查法. 中国生物制品学杂志1991;4(2):85
- [6]吴伟洪. 鲎与鲎试验法论文汇编(二),厦门:厦门市医药研究所鲎研室,1983,106
- [7]张美琴,唐银海. 中国输血杂志. 1991,4(3):147