

我国与WHO血液制品去除/灭活病毒技术方法与验证指导原则的比较研究

徐宏山, 岳广智, 杨立宏, 刘欣玉, 李玉华* (中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要 目的: 比较我国现行《血液制品病毒去除/灭活验证指导原则》[国药监注(2002)160号]与世界卫生组织(WHO)《血液制品病毒去除/灭活验证指南》, 旨在推动我国血液制品病毒风险控制与管理水平的提高及血液制品的合理应用。方法: 从去除/灭活病毒方法的选择、常用去除/灭活病毒方法评价、特定的去除/灭活病毒方法验证、生产工艺去除/灭活病毒能力、去除/灭活病毒方法再验证、临床试验、输血用病毒灭活血浆和正在开发的新型病毒灭活方法等几个方面进行比较, 对血浆及其制品生产工艺中病毒灭活/去除的相关方法及其验证进行研究。结果与结论: 我国现行《血液制品病毒去除/灭活验证指导原则》与WHO《血液制品病毒去除/灭活验证指南》总体要求基本一致, 对我国血液制品去除/灭活病毒技术方法与验证工作仍具有适用性和指导性。

关键词: 血液制品; 世界卫生组织; 病毒去除/灭活; 病毒安全性; 指导原则; 方法与验证

中图分类号: R95; R457; Q939.45 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2023)04-0367-09
doi:10.16153/j.1002-7777.2023.04.001

Comparison of China and WHO Guidelines on Virus Removal / Inactivation Technical Methods and Validation of Blood Products

Xu Hongshan, Yue Guangzhi, Yang Lihong, Liu Xinyu, Li Yuhua* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: By comparing the current Guiding Principles for the Verification of Virus Removal/Inactivation of Blood Products [National Drug Administration Note (2002) No. 160] with the World Health Organization's Guidelines for the Verification of Virus Removal/Inactivation of Blood Products, the purpose is to promote the improvement of virus risk control and management level of blood products and the rational application of blood products in China. **Methods:** The selection of virus removal/inactivation methods, evaluation of common virus removal/inactivation methods, validation of specific virus removal/inactivation methods, removal/inactivation capability of production processes, revalidation of virus removal/inactivation methods, clinical trials, virus-inactivated plasma for blood transfusion and new virus inactivation methods under development were compared. The relevant methods and verification of virus inactivation/removal in the production process of plasma and its products were studied. **Results and Conclusion:** Our current Guiding Principles for the Verification of Virus Removal/Inactivation of Blood Products are in accordance with the overall requirements of the WHO Guidelines for the Verification Virus Removal/Inactivation of Blood Products, which

still have applicability and guidance for the technical methods and verification of virus removal/inactivation of blood products.

Keywords: blood products; WHO; viral removal /inactivation; virus-safety; guideline; methods and validation

血液制品 (Blood Products) 指源自人类血液或血浆的治疗产品, 如人血白蛋白、人免疫球蛋白和人凝血因子等^[1], 是由健康人的血浆或特异免疫人血浆分离、提纯制成的治疗产品, 用于诊断、治疗或被动免疫预防。但通过血浆和纯化血浆制品传播血源性病毒仍然被认为对使用者构成风险。历史上与血液制品相关的主要具有威胁性的病毒主要有乙型肝炎病毒 (Hepatitis B Virus, HBV)、丙型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus, HCV)、人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus, HIV)、甲型肝炎病毒 (Hepatitis A Virus, HAV) 和细小病毒B19等^[2]。因此, 血液制品病毒的安全性控制尤为重要。目前, 指导我国血液制品病毒去除/灭活工作的主要依据为《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)(以下简称《指导原则》)^[3]。国际上主要参考世界卫生组织 (WHO) 技术报告中的《病毒去除/灭活验证指南》(以下简称《WHO指南》)^[2]及欧盟和美国各自的有关规定。为此, 本文对我国《指导原则》与《WHO指南》中有关去除/灭活病毒方法的选择、常用去除/灭活病毒方法评价、特定的去除/灭活病毒方法验证、生产工艺去除/灭活病毒能力、去除/灭活病毒方法再验证、临床试验、输血用病毒灭活血浆以及正在开发的新型病毒灭活方法等方面进行比较和阐述, 以期对血液制品病毒安全性提供参考。

1 我国血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则的历史沿革

20世纪80年代前后, 法国、日本、加拿大和

英国等国家相继发生因血液制品中含有艾滋病病毒和丙型肝炎病毒等导致成千上万人感染艾滋病和丙型肝炎的重大事件^[4]。为了提高我国血液制品的安全性, 使我国血液制品病毒去除/灭活工作与WHO血液制品病毒去除/灭活指南接轨, 中华人民共和国卫生部和国家药品监督管理局组织有关专家先后对“卫药政发(1994)第264号”和“卫药生发(1997)第443号”做了进一步修改和完善, 对国内在血液制品病毒去除/病毒灭活方法及其验证和论证程序方面提出初步要求。国家药品监督管理局于2002年发布了《指导原则》, 从不同制品去除/灭活病毒方法的选择、常用的去除/灭活病毒方法评价以及去除/灭活病毒的方法验证等5个方面进行了规范。

2 去除/灭活病毒方法的选择

《指导原则》中对不同类血液制品选择的去除/灭活病毒方法侧重点提出大致要求, 基本原则是应有特定的能去除/灭活脂包膜和非脂包膜病毒的方法, 可采用一种或多种方法联合。

《WHO指南》虽然没有对不同血液制品类别明确提出侧重点建议, 但在已上市血液制品已建立的专用病毒灭活和清除程序汇总表中进行了举例。这些举例对生产企业来说参考性和实用性更强。

3 常用去除/灭活病毒的方法评价

《指导原则》中主要提供了5种常用的灭活/去除病毒方法, 包括巴氏消毒法、干热法、有机溶剂/去污剂处理法、膜过滤法和低pH释放法等, 并对每种方法的参数、技术要点有明确要求, 具体见表1。

表1 常用去除/灭活病毒方法

处理方法	参数	技术要点
巴氏消毒法	(60 ± 0.5) °C, ≥ 10 ~ 11 h	设施验证、温度分布和灭活时间。
干热法(冻干制品)	80 °C加热 72 h, 100 °C加热 30 min	制品的水分含量、制品组成(结合实际情况)、干热箱至少每半年验证一次、干燥箱内应设多个测温点(包括制品内、箱内最高和最低温度点)。

续表 1

处理方法	参数	技术要点
有机溶剂 / 去污剂 (S/D) 处理法	0.3% 磷酸三丁脂 (Tri N Butyl Phosphate, TNBP) 和 1% 吐温-80, 24 °C 处理至少 6 h; 0.3% TNBP 和 1% 聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100), 在 24 °C 处理至少 4 h	S/D 处理前应先用 1 μm 滤器除去蛋白溶液中可能存在的颗粒 (颗粒可能藏匿病毒从而影响病毒灭活效果); 加入 S/D 后确保是均一的混合物; 应将温度控制在规定的范围内。如果在加入 S/D 后过滤, 则须检测过滤后 S/D 的浓度是否发生变化, 如有变化应进行适当调整。吐温-80 应采用植物源性。
膜过滤法	无明确参数	滤膜的孔径比病毒有效直径小; 不能单独使用, 应与其他方法联合使用; 应考虑蛋白溶液的浓度、滤速、压力和过滤量等重要参数; 在过滤前及过滤后应测试滤膜的完整性。
低 pH 孵放法	pH 4	pH、孵放时间和温度、胃酶含量、蛋白质浓度、溶质含量等。

其中, 膜过滤法是《指导原则》中唯一的病毒去除的方法, 该方法的主要作用机制是粒径排阻分子筛和吸附。在生产过程中企业常采用 35 ~ 50 nm 孔径的膜去除病毒, 随着制品生产过程中纯化水平的提高, 目前 15 ~ 20 nm 孔径的膜也常有应用。该方法可去除大部分病毒, 尤其对细小病毒 B19 可有效去除。该方法可串联、针对性强、下游污染少、蛋白回收率高, 便于整合到工艺过程的多个工段。但由于过滤器滤膜只能一次性使用, 成本较高。随着人们对滤膜研究的深入了解, 不同滤膜生产企业的滤膜性能存在差异, 预过滤层和精密截留层应考虑不同品牌滤膜和不同批次过滤器滤膜性能的一致性和适用性。如果工艺中有可能使用预过滤器, 在设计验证研究时, 必须确定是否使用了预过滤器以

及如何将其纳入研究设计。一些蛋白呈现出时间依赖性的聚体倾向, 尤其会在冻存过程产生聚体, 因此, 应考虑放置时间与冻存的影响。无论是高流速低通量还是低流速高通量, 除病毒过滤的过程一般要保证连续过滤, 压力中断可能导致病毒穿透的风险外, 还应考虑膜过滤去除病毒过程中出现的压力释放情况, 需如何评价和处理。

《WHO 指南》中对公认的病毒去除/灭活方法进行了比较详尽的综述, 分为病毒灭活和病毒去除两部分, 并在病毒灭活方法部分增加蒸汽加热法, 在病毒去除方法部分增加沉淀法和色谱法, 并对每种方法在优点、注意事项和需记录的关键参数方面进行了详细汇总。见表 2、表 3。

表 2 公认的病毒灭活方法特点汇总

病毒灭活方法	优点	需考虑的要点	需记录的最关键参数
巴氏消毒法	<ul style="list-style-type: none"> 灭活包膜和一些非包膜病毒, 包括甲型肝炎病毒 相对简单的设备 	<ul style="list-style-type: none"> 蛋白质稳定剂也可保护病毒 HBV 相对热稳定性 不能灭活细小病毒 B19 需要工艺验证 	<ul style="list-style-type: none"> 温度 温度均匀性 持续时间 稳定剂浓度
终端干热	<ul style="list-style-type: none"> 灭活包膜和一些非包膜病毒, 包括甲型肝炎病毒 最终容器处理 	<ul style="list-style-type: none"> 通常需要至少 80 °C 的温度失活 不能灭活细小病毒 B19 要求严格控制含水量 冷冻和冻干条件需要充分验证 	<ul style="list-style-type: none"> 冷冻循环 冻干循环 温度均匀性 残留水分
蒸汽加热	<ul style="list-style-type: none"> 灭活包膜和一些非包膜病毒, 包括甲型肝炎病毒 	<ul style="list-style-type: none"> 不灭活细小病毒 B19 冷冻和冻干条件需要充分验证 实施相对复杂 	<ul style="list-style-type: none"> 冷冻循环 初始冻干循环 温度均匀性 加热前后水分

续表 2

病毒灭活方法	优点	需考虑的要点	需记录的最关键参数
S/D法(有机溶剂/去污剂)	<ul style="list-style-type: none"> 对包膜病毒非常有效 不会导致蛋白质变性 高回收率 相对简单的设备 	<ul style="list-style-type: none"> 无包膜病毒不受影响 一般不受缓冲液影响 有机溶剂/去污剂必须去除 	<ul style="list-style-type: none"> 温度 持续时间 试剂浓度
低 pH 法	<ul style="list-style-type: none"> 对包膜病毒有效 相对简单的设备 	<ul style="list-style-type: none"> 对无包膜病毒有限 主要限于 IgG 使用 pH 值为 4 时,有效杀灭病毒需要升高温度 需要工艺验证 	<ul style="list-style-type: none"> pH 温度 持续时间

表 3 公认的病毒去除方法特点汇总

病毒去除方法	优点	需考虑的要点	需记录的最关键参数
沉淀法	<ul style="list-style-type: none"> 纯化蛋白质 对包膜病毒和非包膜病毒有效,包括甲型肝炎病毒和细小病毒 B19 	<ul style="list-style-type: none"> 去除病毒能力适中 难以建模 	<ul style="list-style-type: none"> 沉淀剂浓度 蛋白质浓度、pH,以及可能的离子强度 温度 添加沉淀剂和沉淀老化的时间 沉淀与上清液的污染程度(反之亦然)
色谱法	<ul style="list-style-type: none"> 纯化蛋白质 对有包膜病毒和非包膜病毒有效,包括甲型肝炎病毒和细小病毒 B19 	<ul style="list-style-type: none"> 病毒去除高度依赖于树脂、蛋白质、溶液和缓冲液的选择 不同病毒之间可能变化很大 随着树脂老化,病毒去除程度可能会发生变化 树脂必须在批次之间进行消毒 	<ul style="list-style-type: none"> 树脂包装检测如理论塔板高度(Height Equivalent to Theoretical Plate, HETP) 蛋白质洗脱曲线 流速和缓冲液体积 树脂循环使用次数
纳米膜过滤	<ul style="list-style-type: none"> 对有包膜病毒有效 对无包膜病毒有效,包括甲型肝炎病毒和细小病毒 B19 不会使蛋白质变性 对“较小”蛋白质有较高回收率,如凝血因子 IX 等 在无菌灌装之前进行时,下游污染风险有限 	<ul style="list-style-type: none"> 病毒去除程度取决于所用过滤器的孔径 小型病毒的清除可能不完全 过滤器缺陷可能无法通过完整性测试进行检测 	<ul style="list-style-type: none"> 压力 流速 过滤前后过滤器完整性 蛋白质浓度 产品体积与过滤器面积的比率

4 特定的去除/灭活病毒方法验证

《指导原则》在方法验证部分包括指示病毒的选择、方案设计、观察指标和效果判定。

4.1 指示病毒的选择

《指导原则》和《WHO指南》中均列举了

HIV、HBV和HCV 3种主要的指示病毒,并在基因组、脂包膜和大小等特性方面进行了描述。所选择的指示病毒至少应包括HIV-1、HBV和HCV模拟病毒以及非脂包膜病毒。《指导原则》和《WHO指南》的汇总见表4。

表4 经血液传播疾病的相关病毒及验证可选用的指示病毒(举例)

病毒	基因组	脂包膜	大小 /nm	指示病毒举例
HIV	ssRNA	有	80~130	HIV
HBV	dsDNA	有	40~45	鸭乙型肝炎病毒、伪狂犬病毒
HCV	ssRNA	有	40~60	牛腹泻病毒、辛德毕斯病毒
HAV	ssRNA	无	28~30	HAV、脊髓灰质炎病毒、脑心肌炎病毒、塞姆利基森林病毒*、黄热病毒*
B19	ssDNA	无	18~26	犬细小病毒、猪细小病毒

注: ds: 双链; ss: 单链; * 为《WHO 指南》中列举的指示病毒。

塞姆利基森林病毒是一种与疾病的关系尚未明确的披膜病毒科虫媒病毒, 从很多种蚊虫和某些没有临床症状的鸟和动物宿主中分离出来。病毒学和血清学研究结果表明, 该病毒广泛分布于非洲, 可能也分布于南亚和南欧。由于国内研究甚少, 国内未选择将其作为指示病毒。黄热病毒与登革病毒、寨卡病毒、西尼罗病毒和乙型脑炎病毒抗体等有较强的交叉反应, 我国是登革热和乙型脑炎流行

区, 人群中具有较高的抗体背景, 因此, 黄热病毒也不适合作为指示病毒。

4.2 方案设计

《指导原则》从8个方面对方案设计进行了明确要求, 《WHO指南》则分散在不同段落予以描述。总体来讲, 二者的要求基本一致, 但我国的《指导原则》要求更具体, 参考性和操作性更强。二者的比较见表5。

表5 《指导原则》与《WHO 指南》在方案设计方面的比较

比较项目	《指导原则》	《WHO 指南》
体系要求	《药物非临床研究质量管理规范》(Good Laboratory Practice, GLP)	《药品生产质量管理规范》(Good Manufacturing Practice, GMP)
参数	机械参数和理化参数。	分散在不同方法中描述。
病毒灭活动力学	灭活速率和灭活曲线。	需要证明病毒灭活的动力学和程度。
指示病毒滴度	$\geq 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$	应将可合理使用的最高滴度的病毒添加到待测溶液中。
加入病毒与待验证样品体积比	$\leq 1 : 9$	$\leq 1 : 9$
病毒滴定时间	验证过程中每步取出的样品应尽快直接进行病毒滴定, 不做进一步处理。	未规定
检测方法	蚀斑形成、细胞病变、终点滴定或其他方法(每一个取样点应取双份样品并设有对照)。	未规定
两步及以上病毒去除/灭活方法	分别进行病毒灭活效果验证。	不同步骤单独评估, 注意不要将同一处理计数2次。

4.3 观察指标

《指导原则》分别在病毒方面、病毒去除/灭活各参数允许变化范围、蛋白质方面进行了相关规

定,《WHO指南》未对观察指标进行总上体的明确要求,在一般注意事项和各灭活方法部分进行部分描述。二者的比较见表6。

表6 《指导原则》与《WHO指南》在观察指标方面的比较

观察指标	《指导原则》	《WHO指南》
病毒方面	去除/灭活病毒滴度,灭活病毒速率、灭活曲线。以列表和做图形式报告验证结果。	病毒滴度降低,灭活过程,灭活率和灭活曲线的形状。
病毒去除/灭活各参数	允许变化范围。	确保过程步骤的准确建模和确定最有效降低该过程传染性的参数。
蛋白质方面	1. 制品质量应符合《中国生物制品规程》*或有关规定。 2. 测定蛋白质结构和功能活性的变化(制品比活性、分子大小和形状变化、蛋白结构变化)。 3. 如果采用新的去除/灭活方法(包括更换使用已认可的病毒灭活方法或国内外未曾采用过的病毒去除/灭活方法),需对蛋白质半衰期和新免疫原性进行研究。	1. 蛋白结构检测(电泳、等电聚焦、抗原/活性比、新免疫原性) 2. 成品检验

注:《中国生物制品规程》,即我国《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)三部,目前执行《中国药典》三部2020年版。

4.4 效果的判定

《指导原则》中对病毒去除/灭活验证的效果判定标准有明确规定,《WHO指南》中未明确表

明判定标准,在一般注意事项和传染源等部分有相关描述。二者的比较见表7。

表7 《指导原则》与《WHO指南》在效果判定的比较

判定标准	《指导原则》	《WHO指南》
合理性	指示病毒是否适宜,验证设计是否合理。	哪种方法最合适取决于多种因素,如病毒类型、产品性质和生产过程的特点。
病毒降低量	$\geq 4 \log$ s	稳健、有效和可靠的工艺步骤将能够去除或灭活大量病毒,通常为4个或更多log,易于建模,且对工艺条件的变化相对不敏感。
病毒灭活动力学	病毒灭活速率和灭活曲线更好地显示病毒灭活的效果。	灭活动力学很重要,大量病毒的快速杀灭是该步骤灭活病毒潜力的良好特征。
滴度计算	病毒实际滴度为基础病毒,指示病毒与样品1:9的比例混匀后零点取样的病毒滴度,通过与经去除/灭活病毒后的测定的实际病毒残留量的比较,作为该病毒去除/灭活方法(步骤)实际的灭活病毒的量。	应测量病毒感染性起始滴度,最好是在加入样品后,然后在病毒灭活/去除过程中随时间变化。必须研究最坏情况。应进行适当的控制,以证明分析的有效性和敏感性。结果通常以报告的传染性降低的对数表示。总感染力或病毒载量计算为感染滴度(每毫升感染单位)乘以体积。病毒清除率将评估步骤开始时的病毒载量与结束时的病毒载量进行比较。
病毒检测敏感度的限值	对检测灵敏度限值有详细举例说明。	未描述。

5 生产工艺去除/灭活病毒能力的验证需要特殊考虑的问题

《指导原则》从6方面强调了生产工艺去除/灭活病毒能力验证过程中需要特殊考虑的问题。

归纳为步骤选择、工艺参数、病毒选择、核酸扩增技术、有效病毒去除步骤的判定及验证目的。《WHO指南》未明确列出，在一般注意事项及方法描述各部分有所提及。二者的比较见表8。

表 8 验证需要特殊考虑的问题

考虑的问题	《指导原则》	《WHO指南》
步骤选择	只对可能有去除/灭活病毒作用的生产步骤进行验证。	步骤对工艺条件变化的响应能力。
生产工艺各参数	应尽可能与实际的生产工艺相一致，应分析参数偏差对病毒去除/灭活效果的影响。	验证研究需要充分记录，以确保程序的正确执行。
病毒选择	生产各步骤对不同类型病毒去除/灭活的选择性。	应包括两种能够消除包膜病毒的独立互补方法，其中至少一种是病毒灭活步骤。
核酸扩增技术（如聚合酶链式反应）	不能用于灭活病毒量的验证，只能用于生产过程中病毒去除量的验证。	混合血浆中存在的病毒基因组核酸的数量可以通过核酸检测（Nucleic Acid Testing, NAT）进行评估。
有效病毒去除步骤的判定	病毒降低量可重复。	病毒灭活步骤的优先顺序应放在具有最高风险潜力的产品上。
验证目的	确定生产工艺去除/灭活病毒的能力，获得生产全过程中估计去除/灭活病毒的总量。	评估在生产过程中消除病毒传染性的程度。

6 研发中的新型去除/灭活病毒方法

随着科学技术的进步，一些新的去除/灭活病毒技术也在血液制品生产中有所应用，可提供更广泛的病毒覆盖范围、补充现有方法、降低成本和/或提高新鲜冷冻血浆（Fresh Frozen Plasma, FFP）的适用性。我国《指导原则》中未具体涉及这部分内容，《WHO指南》中对研发中的新型去除/灭活病毒方法进行了综述，例如采用补骨脂素S-59联合使用A波段紫外线（Ultra-violet A, UVA）处理，可灭活血浆中的病毒；254 nm波长紫外照射（Ultra-violet C, UVC）在人血白蛋白和人免疫球蛋白灭活病毒中的应用；⁶⁰Co γ射线辐照；碘浓度为1.05 mg · mL⁻¹的淀粉结合碘导致模型脂质包膜

和非包膜病毒失活7 logs以上等方法。在许多情况下，这些方法几乎没有临床验证，故在实际血液制品生产中的使用意义不大。因此，我国《指导原则》中未具体提及这些方法。虽然我国有的血液制品企业也在研究⁶⁰Co γ射线辐照、UVC等新型病毒灭活/去除方法，但是由于照射可能会造成蛋白质损害、蛋白活性失活、制品存储期间稳定性降低、污染环境等多方面影响，限制了这些新方法的应用和国家药品监管机构的认可。

7 其他比较

除了上述几大方面比较外，本文还从其他细节方面对我国《指导原则》和《WHO指南》进行比较，具体见表9。

表9 《指导原则》和《WHO指南》的其他比较

内容	《指导原则》	《WHO指南》
适用范围	人血液制品	人血液制品
传染源描述	简略	较详细
色谱法	无	对低温乙醇沉淀和色谱法有详细描述。
湿热法(蒸汽加热)	无描述,但是生产企业已有采用湿热法来进行病毒灭活验证。	有详细描述。
去除/灭活病毒方法的再验证	规定4种情况下需要再验证*。	未涉及
稳定性评估	要求提交稳定性考核结果。	对产品进行加速稳定性研究。
临床试验安全性评估	未涉及**	建议至少有25名或更多志愿者接受安全评估。
输血用血浆的病毒灭活	未涉及	血浆检疫和复测、S/D处理血浆、亚甲蓝和可见光处理血浆。

注:*4种情况分别是(1)首次生产者,需对生产工艺中特定的去除/灭活病毒方法进行再验证;(2)采用新工艺或对原有生产工艺进行了重大改革时,需对生产工艺进行清除病毒能力验证;对特定的去除/灭活病毒方法进行去除/灭活病毒效果验证;(3)工艺改变但不属重大工艺改革时,需对特定的去除/灭活病毒方法进行再验证;(4)被灭活的中间品组成成分或pH发生改变时,需对特定的去除/灭活病毒方法进行再验证。

**《指导原则》中,没有涉及“临床试验安全性评估”的要求,目前现有文件中,《药物I期临床试验管理指导原则(试行)》(2011)中未明确规定志愿者例数。《人纤维蛋白原临床试验技术指导原则(试行)》明确规定上市前临床研究至少10例,若试验中同时纳入儿童受试者,样本量至少16例,其中儿童受试者至少6例。《静注人免疫球蛋白治疗原发免疫性血小板减少症临床试验技术指导原则(试行)》中要求需满足可评价病例数不低于60例。因此,不同制品,需要参考《药物临床试验管理规范》和各自具体的临床试验技术指导原则。

8 讨论

经过数十年的努力,关于供血浆者筛查、供血浆者和血浆检测、生产工艺引入特定去除/灭活病毒方法3方面,我国相继发布了各种法规条例,通过多种控制措施确保血液制品的病毒安全性,包括《血液制品管理条例》、GMP、《单采血浆站管理办法》《关于实施血液制品生产用原料血浆检疫期的通知》^[5-8]《指导原则》等。另外,2020年版《中国药典》新增“生物制品病毒安全性控制”相关内容^[1],对生物制品病毒安全性控制从风险评估、全过程控制和全生命周期管理3方面进行了指导,不同类别生物制品病毒安全性控制要点中明确表明,人血液制品起始原材料为健康人血浆,存在经血液传播病毒的安全性风险,人血液制品的病毒安全性控制应包含生物制品病毒安全性控制的所有要素,重点应考虑人血浆来源的病毒风险控制和生产工艺的病毒清除能力,必要时应实施对上市产品

病毒安全性的追溯。

《指导原则》自2002年发布以来,在去除/灭活病毒技术方法研究方面不断取得进展,如使用核黄素和基于紫外线的光化学处理法^[9-10]、过氧化氢和电子束辐照法^[11]、阿莫沙林/紫外线A光或阿莫他林/谷胱甘肽法^[12-13]、氧依赖性激光灭活法^[14]、铁电絮凝法^[15]、连续蛋白A层析法^[16]和脉冲电晕放电等离子体法^[17]等。近年来,新的去除/灭活病毒技术发展积累了新的病毒清除验证认识,检验检测技术也有了提高,质量控制和监管理念也有所创新。《中国生物制品规程》也已并入《中国药典》2005年版三部,经过2010、2015和2020年版《中国药典》三部不断升级改版,其中血液制品的质量标准也不断提升。因此,在下一版《指导原则》修订时,建议考虑对新的去除/灭活病毒技术方法如蒸汽加热法、补骨脂素S-59联合UVA法的考量,对S/D法处理后有机溶剂/去污剂残留量的考量,去除/

灭活病毒方法再验证情况增加更换新生产线、新去除/灭活病毒设备, 以及涉及再验证的工艺变更的界定等, 以提高《指导原则》的适用性和指导性。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典: 三部[S]. 2020: 25-702.
- [2] WHO Technical Report, Series No.924, Annex 4, Guidelines on Viral Inactivation and Removal Procedures Intended to Assure the Viral Safety of Human Blood Plasma Products[S]. 2004: 150-224.
- [3] 国家药品监督管理局药品审评中心. 血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则[EB/OL]. (2008-09-04) [2022-12-06]. https://www.cde.org.cn/zdzyz/domestic_infopage?zdzyzIdCODE=1df43aa707869a9c8bc11afe1ed48ff1.
- [4] National Hemophilia Foundation (NHF). History of Bleeding Disorders[EB/OL]. (2014-03-04) [2022-12-06]. <http://www.hemophilia.org/Bleeding-Disorders/History-of-Bleeding-Disorders>.
- [5] 中华人民共和国国务院. 血液制品管理条例(中华人民共和国国务院令第208号)[EB/OL]. (1996-12-06) [2022-12-06]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/qita/19961206010101537.html>.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 药品生产质量管理规范(2010年修订)[EB/OL]. (2011-01-17) [2022-12-06]. https://gkml.samr.gov.cn/nsjg/bgt/202106/t20210629_331742.html.
- [7] 国家食品药品监督管理局. 单采血浆站管理办法[EB/OL]. (2012-01-10) [2022-12-06]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/qita/20120110145001374.html>.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 关于实施血液制品生产用原料血浆检疫期的通知[EB/OL]. (2007-07-18) [2022-12-06]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20070718010101836.html>.
- [9] Keil SD, Bengrine A, Bowen R, et al. Inactivation of Viruses in Platelet and Plasma Products Using a Riboflavin-and-UV-based Photochemical Treatment[J]. *Transfusion*, 2015, 55 (7): 1736-1744.
- [10] Zhang S, Gao L, Wang P, et al. A minimally Manipulated Preservation and Virus Inactivation Method for Amnion/Chorion[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 952498.
- [11] Cusinato R, Pacenti M, Martello T, et al. Effectiveness of Hydrogen Peroxide and Electron-beam Irradiation Treatment for Removal and Inactivation of Viruses in Equine-derived Xenografts[J]. *J Virol Methods*, 2016, 232: 39-46.
- [12] Laughhunn A, Huang YS, Vanlandingham DL, et al. Inactivation of Chikungunya Virus in Blood Components Treated with Amotosalen/Ultraviolet A Light or Amustaline/Glutathione[J]. *Transfusion*, 2018, 58 (3): 748-757.
- [13] Lanteri MC, Santa-Maria F, Laughhunn A, et al. Inactivation of a Broad Spectrum of Viruses and Parasites by Photochemical Treatment of Plasma and Platelets using Amotosalen and Ultraviolet A Light[J]. *Transfusion*, 2020, 60 (6): 1319-1331.
- [14] Kingsley D, Kuis R, Perez R, et al. Oxygen-dependent Laser Inactivation of Murine Norovirus Using Visible Light Lasers[J]. *Virol J*, 2018, 15 (1): 117.
- [15] Kim K, Narayanan J, Sen A, et al. Virus Removal and Inactivation Mechanisms during Iron Electrocoagulation: Capsid and Genome Damages and Electro-Fenton Reactions[J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55 (19): 13198-13208.
- [16] Goussen C, Goldstein L, Br è que C, et al. Viral Clearance Capacity by Continuous Protein A Chromatography Step Using Sequential Multi Column Chromatography[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1145: 122056.
- [17] Song K, Wang H, Jiao Z, et al. Inactivation Efficacy and Mechanism of Pulsed Corona Discharge Plasma on Virus in Water[J]. *J Hazard Mater*, 2022, 422: 126906.

(收稿日期 2022年9月30日 编辑 李亚徽)