

全自动血凝仪的确认与验证实验研究

杨敬鹏¹, 徐晓楠^{2*} (1. 河南省食品药品审评查验中心, 郑州 450004; 2. 河南省新乡市食品药品检验所, 新乡 453000)

摘要 目的:按照《药品生产质量管理规范》(GMP)及数据可靠性检查的要求,对质控实验室的全自动血凝仪进行确认与验证实验研究。**方法:**对全自动血凝仪按照 GMP 要求进行安装确认(IQ)、运行确认(OQ)和性能确认(PQ)实验。**结果:**IQ 完成了设备信息核查并记录;OQ 准确度确认、精密度确认、干扰实验测试确认均符合要求;PQ 采用人凝血因子 VIII 产品测定效价,测定值在规定的合格范围内,且 CV 值(2.05%)符合规定。**结论:**该 STAGO 全自动血凝仪成功实施了全面的检验仪器确认与验证,符合人凝血因子效价测定实验的要求。

关键词: 全自动血凝仪;人凝血因子;确认与验证;安装确认;运行确认;性能确认

中图分类号: R95 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7777(2017)10-1153-05

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.10.010

Qualification and Validation Study of Automatic Coagulation Analyzer

Yang Jingpeng¹, Xu Xiaonan^{2*} (1. Henan Food and Drug Evaluation and Inspection Center, Zhengzhou 450004, China; 2. Henan Xinxiang Institute for Food and Drug Control, Xinxiang 453000, China)

Abstract Objective: To carry out qualification and validation study of automatic coagulation analyzer according to the requirements of GMP and Data Integrity. **Methods:** Installation qualification (IQ), operational qualification (OQ), as well as performance qualification (PQ) for STAGO coagulation analyzer were carried out according to the requirement of GMP. **Results:** IQ implemented a comprehensive verification of the equipment and made a record; OQ accuracy confirmation, precision confirmation and interference testing confirmation all met the requirements. PQ was determined using the human coagulation factor VIII product to test the valence and the measured value was within the specified range and the CV value (2.05%) was in accordance with the regulations. **Conclusion:** The comprehensive qualification and validation of automatic STAGO coagulation analyzer were successfully implemented. The instrument met the requirements of human coagulation factor potency assay.

Keywords: automatic coagulation analyzer; human coagulation factor; qualification and validation; installation qualification; operational qualification; performance qualification

近年来,在GMP认证检查中,审计追踪和数据可靠性检查日趋成为重中之重。世界卫生组织(WHO)陆续公布了关于数据及记录质量管理规范指南,美国联邦法规也公布了数据可靠性工业

指南,我国2010年修订的《药品生产质量管理规范》^[1]第七章对设备及仪器也提出相应的要求。由此可见,企业的设施设备和检验仪器的确认与验证,在GMP认证检查和企业生产中占据越来越重要

的地位。全自动凝血仪采用无样品干扰的双磁路磁珠法的工作原理,用于临床和实验室中的人血浆样本或凝血因子产品的活性检测,对于凝血因子合成增加或异常而导致的血栓疾病的临床诊断、治疗及凝血因子产品的质量控制具有重要意义。目前国际、国内均已对分析仪器开始实施全面系统的设备仪器确认并提出了相应要求^[2-6],为了检验该仪器是否能稳定地提供准确的实验数据,本文按照要求对全自动凝血仪进行了设备仪器的确认。

1 材料与方法

1.1 材料

仪器校准品(Unicalibrator,批号111675)、正常值质控血清(System Control N,批号114053)、病理值质控血清(System Control P,批号114053)、APTT、PT、人凝血因子II/VII/VIII/IX/X缺乏血浆,均购自法国STAGO公司。

仪器:STAGO全自动凝血仪,法国STAGO公司生产,型号STA Compact。

1.2 方法

1.2.1 安装确认(IQ)

确认仪器设备放置、电源、配套显示器、打印机、仪器设备连接是否完好,人员已培训,相应的标准操作规程等准备完毕并形成记录。

1.2.2 运行确认(OQ)

准确度确认:采用System Control N、System

Control P测定内源性凝血因子(例如VIII因子)和外源性凝血因子(例如VII因子)效价。

精密度确认:分别对System Control N、System Control P的II因子和X因子效价测定10次,计算均值、SD及CV值。

干扰实验确认:分别制备混合血浆S1(1.0 mL System Control N+0.5 mL System Control P)和混合血浆S2(0.5 mL System Control N+1.0 mL System Control P)各3支,按随机排列放入仪器样品测定池中测定VIII因子效价;对照组采用System Control N,进行VIII因子效价3次重复性测定。

1.2.3 性能确认(PQ)

取1批批签发检验合格的人凝血因子VIII 6瓶,作为6个独立样品,按实验室人凝血因子VIII效价测定SOP及STAGO凝血分析仪相关操作程序进行人凝血因子VIII效价检测。

2 结果

2.1 安装确认结果

设备的安装环境(如温度、湿度、电压等)符合设备安装条件要求,设备安装过程中未出现异常,设备安装完毕后逐条记录并完成设备档案。

2.2 运行确认结果

准确度: System Control N、System Control P的VIII因子和VII因子3次效价测定结果均在标示的质控范围内,见表1。

表1 准确度确认

项目	System Control N		System Control P	
	VIII 因子效价 /%	VII 因子效价 /%	VIII 因子效价 /%	VII 因子效价 /%
1	98	91	33	40
2	92	92	35	43
3	95	97	36	42
均值	95	93	35	42
标示范围	82~116	87~117	29~43	34~46
结论	合格	合格	合格	合格

精密度确认:对 System Control N、System Control P 分别测定 10 次 II 因子、X 因子效价,其

CV 值均小于 10%,结果见表 2。

表 2 精密度确认

项目	System Control N		System Control P	
	II 因子效价 /%	X 因子效价 /%	II 因子效价 /%	X 因子效价 /%
1	91	95	32	36
2	88	96	35	38
3	93	95	34	37
4	95	92	36	35
5	93	93	37	39
6	95	95	32	34
7	92	93	33	33
8	93	99	35	32
9	95	98	36	35
10	90	90	35	36
均值	92.5	94.6	34.5	35.5
标示范围	78 ~ 104	80 ~ 108	30 ~ 40	31 ~ 43
SD	2.32	2.72	1.72	2.17
CV/%	2.51	2.87	4.97	6.12

干扰实验确认：取混合血浆 S1 和 S2 各 3 支，测定结果的 CV 值小于 10%，见表 3。
VIII 因子效价测定结果和对照组 VIII 因子效价测

表 3 干扰实验确认

项目	随 机 组		对 照 组
	S1	S2	N
	VIII 因子效价 /%	VIII 因子效价 /%	VIII 因子效价 /%
1	73	51	98
2	78	57	92
3	77	51	95
均值	76	53	95 (标示 82~116)
CV/ %	3.48	6.54	3.16

2.3 性能确认结果

6瓶凝血因子VIII样品效价测定值均在批签发

合格范围内(标示量的80%~140%),且6瓶样品测定的CV值(2.05%)小于10%,见表4。

表 4 性能确认

样品编号	检测值 / (IU/瓶)	与标示量比 /%
1	227	114
2	234	117
3	230	115
4	240	120
5	235	118
6	229	114
CV/%	2.05	

3 讨论

随着数据可靠性检查成为国内企业接受WHO^[7]或欧盟GMP检查及我国GMP检查中的重点内容之一,设施设备和检验仪器的确认与验证在GMP认证检查中和企业生产过程中的重要性不言而喻。对于数据可靠性的理解,从广义上说是所有数据的真实性、完整性、可追溯性,从狭义上说是QC数据真实性、完整性。因而对于企业QC实验室,如何规范进行检验仪器的确认与验证是目前面临的紧迫任务,也是一个需要不断完善的课题。

我国对于国内血液制品企业提出了加强人血浆资源综合利用、加快人凝血因子产品研发的一系列要求^[8]。在临床上治疗血友病等疾病方面,人凝血因子产品有着不可替代的作用,是血友病人的终生用药。人凝血因子效价是该产品发挥临床作用非常重要的质控指标。全自动血凝仪在测定人凝血因子产品效价时起到了重要的作用。本文选取人凝血因子产品、以全自动血凝仪为例,对检验仪器的确认与验证实验进行了研究,具有很好的实际意义。

目前,国际上通用的凝血因子效价检测方法主要有凝集法和显色法^[9],2005年版至2015年版《中国药典》^[10]收入的人凝血因子效价测定方法均为凝集法^[11]。STAGO全自动血凝仪的凝集法测量采用无样品干扰的双磁路磁珠法,工作原理即通过电磁传感器检测反应杯中钢珠摆动幅度的变化^[12]。检测开始时两个独立的驱动线圈产生的交替电磁场

驱使钢珠在两条弧形轨道(反应杯中)中摆动。加入样品后,如果检测介质的黏度不变,钢珠摆动的振幅恒定;如果检测介质的黏度增加,钢珠摆动的振幅衰减。磁场的强度可以根据不同检测项目和血浆凝块类型而改变。钢珠在反应杯中的位置信号被传感器接收,通过一系列运算法则把振幅的改变换算成凝固时间。

在STAGO全自动血凝仪的验证过程中,IQ中记录仪器各项指标均符合规定,并形成文件记录等;OQ中进行了准确度确认、精密度确认、干扰实验确认;PQ中对已获批准签发的合格样品进行检测,单瓶样品结果及瓶间差异均符合规定。各项结果显示,各阶段操作均符合设备确认要求及预期使用目的,STAGO全自动血凝仪在人凝血因子效价测定的实验研究中,基本完成了全面验证。

参考文献:

- [1] 卫生部.卫生部令第79号 药品生产质量管理规范(2010年修订)[S].2011.
- [2] World Health Organization. Annex 4 Supplementary Guideline on good Manufacturing Practices: Validation[S]. WHO Technical Report Series, 2006: 937.
- [3] World Health Organization. WHO/VSQ/97.02 A WHO Guide to Good Manufacturing Practice(GMP) Requirements. Part2:Validation.Geneva.Global Programme for Vaccines and Immunization, Vaccine Supply and Quality, Global

- Training Network[S]. 1997.
- [4] World Health Organization. Annex 4 Supplementary Guideline on Good Manufacturing Practices: Validation[S]. WHO Technical Report Series, No.937, 2006 .
- [5] The United States Pharmacopeial Convention. United State Pharmacopoeia(USP35-NF30), General Information<1058>:Analytical Instrument Qualification[Z]. 2012:594-598.
- [6] 何国强主编. 制药工艺验证实施手册 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 198-204
- [7] NCCLS EP5-A(美国临床和实验室标准协会临床化学设备精密性能的评价指南 [S]. 1999.
- [8] 卫生部. 卫生部令第 58 号 单采血浆站管理办法 [S]. 2008.
- [9] European Pharmacopoeia Secretariat. EUROPEAN PHARMACOPOEIA7.0[S]. 2008: 207-208.
- [10] 中国药典: 三部 [S]. 2015: 通则 3521.
- [11] 王箐舟, 赵卉, 王威, 等. 第四批人凝血因子 VIII 国家标准品制备和标定 [J]. 中国药品标准, 2013, 14(3): 188-190.
- [12] STAGO. 全自动血凝仪说明书. France: STAGO 2006. www.stago.fr.
- (收稿日期 2016 年 11 月 7 日 编辑 范玉明 郑丽娥)