

## S/D 处理法和干热法用于 C1 酯酶抑制剂病毒灭活的效果验证

杨立宏, 岳广智, 徐宏山, 刘欣玉\*, 叶强

(中国食品药品检定研究院 虫媒病毒疫苗室, 北京 102629)

**摘要 目的:** 验证运用有机溶剂/去污剂(S/D)处理法和干热法对 C1 酯酶抑制剂(C1-INH)中病毒灭活效果。**方法:** 采用 S/D 处理法灭活含 S/D 样品中增加的辛德毕斯病毒, 噬斑滴定法检测灭活前后的病毒滴度, 干热法灭活脑心肌炎病毒(EMCV)和猪细小病毒(PPV), 细胞病变法检测灭活前后的病毒滴度。**结果:** 经 S/D 处理法灭活后, 3 批含 S/D 样品中辛德毕斯病毒降低量分别为  $> 4.35 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $> 4.51 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $> 4.64 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。经干热法灭活后, 3 批不含 S/D 样品中 EMCV 降低量分别为  $\geq 5.38 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $\geq 5.12 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $\geq 5.25 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ , PPV 降低量分别为  $4.57 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $4.18 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $4.68 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 。**结论:** 通过对指示病毒的验证效果评估, 证明 S/D 法和干热法对 C1-INH 中的辛德毕斯病毒、EMCV 和 PPV 均有较好的灭活效果。

**关键词:** 有机溶剂/去污剂处理法; 干热法; C1 酯酶抑制剂; 病毒灭活; 辛德毕斯病毒; 脑心肌炎病毒; 猪细小病毒

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2025)01-104-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0466

## Verification for effect of virus inactivation in C1 esterase inhibitor by solvent/detergent and dry heating

YANG Li-hong, YUE Guang-zhi, XU Hong-shan, LIU Xin-yu\*, YE Qiang

(Division of Arboviral Vaccines, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

**Abstract Objective:** To confirm the validity of solvent/detergent (S/D) treatment and dry heating for inactivation of virus in C1 esterase inhibitor (C1-INH). **Methods:** The Sindbis virus in samples with S/D was inactivated by the S/D method, and the virus titer before and after inactivation was detected using the plaque assay. Dry heating method was used to inactivate encephalomyocarditis virus (EMCV) and porcine parvovirus (PPV), and cytopathic assay was used to detect the virus titer before and after inactivation. **Results:** After inactivation by the S/D method, the reductions of Sindbis virus in three batches of samples with S/D were  $> 4.35 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $> 4.51 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $> 4.64 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. After dry heating, the reductions of EMCV in three batches of samples without S/D were  $\geq 5.38 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,  $\geq 5.12 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,  $\geq 5.25 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ , respectively, and the reductions of PPV in three batches of samples without S/D were  $4.57 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,  $4.18 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,  $4.68 \lg\text{TCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ , respectively. **Conclusion:** With evaluation on the inactivation capability of the indicator viruses, it is proved that

\* 通信作者 Tel:(010)53851785; E-mail: liuxinyu@nifdc.org.cn

第一作者 Tel:(010)53851789; E-mail: yanglihong@nifdc.org.cn

the S/D treatment and dry heating has good inactivation and removal effect on the virus in C1-INH.

**Keywords:** S/D treatment; dry heating; C1 esterase inhibitor; virus inactivation; Sindbis virus; encephalomyocarditis virus; porcine parvovirus

C1 酯酶抑制剂 (C1 esterase inhibitor, C1-INH) 是一种血浆蛋白酶抑制物,作为唯一能通过经典途径和凝集素途径对补体系统进行调节的抑制剂,在血浆级联系统中有着重要的调节作用。

C1-INH 发挥作用迅速,副作用较小,可用于预防或治疗遗传性血管性水肿,其浓缩制剂被国际性的指导通则推荐为遗传性血管性水肿急性治疗药物,血浆来源的 C1-INH 浓缩制剂为孕妇、哺乳期女性及儿童的首选药物<sup>[1-6]</sup>。另外,其非蛋白酶抑制作用在抗炎、移植排异反应、热损伤、缺血再灌注、肠道缺血等危重病治疗领域都有一定的应用价值<sup>[7]</sup>,但国内目前尚无产品上市。

C1-INH 可通过血浆提纯和重组表达的方式生产。血浆提纯的 C1-INH 作为一种血液制品,存在病毒污染风险,根据 WHO《保障人血液制品安全性的病毒灭活和去除方法指南》和国家药品监督管理局制定的《血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则》的要求,生产工艺应能够对病毒进行灭活/去除,并保证灭活工艺验证中去除病毒量一般应超过 4 logs,以提高其安全性<sup>[8-9]</sup>。

本研究将有机溶剂/去污剂 (S/D) 处理法和干热法应用于血浆提纯 C1-INH 病毒灭活/去除,并进行了验证,旨在评价 2 种工艺的病毒灭活/去除效果,以确保 C1-INH 制品的安全性。

## 1 材料与仪器

### 1.1 样品

3 批血浆提纯 C1-INH 样品 (批号 1~3) 由国内某血液制品生产企业提供,每批包括含 S/D 和不含 S/D 2 种规格。

### 1.2 细胞

猪睾丸 (swine testis, ST) 细胞、幼地鼠肾 (baby hamster kidney 21, BHK-21) 细胞、非洲绿猴肾 (Vero) 细胞由中国食品药品检定研究院虫媒病毒疫苗室 (简称本室) 保存。

### 1.3 毒种

辛德毕斯病毒为本室传代保存;猪细小病毒 (porcine parvovirus, PPV)、脑心肌炎病毒 (encephalo-

myocarditis virus, EMCV) 来源于美国模式菌种收集中心 (American Type Culture Collection, ATCC)。

## 1.4 主要试剂及仪器

Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)、胎牛血清 (FBS)、胰蛋白酶-EDTA 均购自 Gibco 公司;甲基纤维素覆盖物购自 Sigma 公司;双抗 (青霉素、链霉素) 购自索来宝公司。NUAIR-NU-437-600S 生物安全柜购自纽艾尔公司;Thermo 3111 CO<sub>2</sub> 培养箱购自热电公司;BS-31 55L 恒温水浴摇床购自杰奥特公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 S/D 处理法病毒灭活工艺验证

**2.1.1 样品处理** 分别吸取 3 批含 S/D 样品各 9.0 mL,加入辛德毕斯病毒液 (标示滴度 7.68 lgPFU·mL<sup>-1</sup>) 1.0 mL,混匀后放入 24.8~25.0 °C 水浴,分别于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 h 取样,用终止液 (含 4% FBS、1% 双抗、0.075% 碳酸氢钠的 DMEM) 1 : 100 稀释,冻存 -70 °C 冰箱备测。分别吸取 3 批不含 S/D 样品各 9.0 mL,加入辛德毕斯病毒液 1.0 mL,混匀后各取 0.2 mL,用终止液 1 : 100 稀释,作为 0 h A 对照,于 -70 °C 冰箱冻存备测。其余 9.8 mL 混合液放入 24.8~25.0 °C 水浴,于 6 h 取 0.2 mL 用终止液 1 : 100 稀释,作为 6 h A 对照样品,-70 °C 冰箱冻存备测。取 3 批含 S/D 样品各 9.0 mL,放入 24.8~25.0 °C 水浴,于 6 h 取样 0.2 mL,用终止液 1 : 100 稀释至 20.0 mL,按 1 : 10 加入辛德毕斯病毒液 2.0 mL 为 B 对照,混匀分装后置 -70 °C 冰箱备测。同时,取辛德毕斯病毒液 2.0 mL,作为病毒对照,置 -70 °C 冰箱备测。

**2.1.2 病毒检测** BHK-21 细胞弃去培养液上清,加入胰蛋白酶-EDTA 消化至细胞开始脱落后,弃去细胞瓶中的胰蛋白酶-EDTA,加入 DMEM,吹打分散细胞。计数细胞,将浓度为 1.5 × 10<sup>6</sup>·mL<sup>-1</sup> 的细胞悬液接种入 6 孔板,每孔 4.0 mL。37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养约 48 h 至长成细胞单层。弃去孔内的细胞培养液,用含 2% FBS 的 DMEM 样品 10 倍系列稀释,接种 6 孔板,每稀释度接种 2 孔,接种量为每孔 500 μL。在 (37 ± 1) °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱放置 60 min,期间每 20 min 轻摇 1 次。之后每孔加甲基纤维素覆盖物 4.0 mL,

继续培养 5 d。吸去覆盖物,每孔加 1% 结晶紫染色液 2.0~3.0 mL,室温染色 20~30 min,然后倒掉染色液,用流水冲洗细胞,将染色液冲洗干净,于室温晾干。计数每孔蚀斑数,计算病毒滴度。病毒滴度( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )= $\lg 10^{|X|} + \lg(10^X \text{ 对应的平均噬斑数}) + \lg 2$ , $|X|$  为蚀斑数

10~99 范围的的最高稀释度的绝对值。

结果显示,3 批含 S/D 样品加入指示病毒辛德毕斯病毒后经 S/D 处理法、25.0 °C、6 h 处理后,可灭活该病毒滴度分别为  $>4.35 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $>4.51 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $>4.64 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,见表 1。

表 1 S/D 处理法灭活含 S/D 样品中辛德毕斯病毒效果

Tab. 1 Inactivation effect of S/D treatment on Sindbis virus in samples with S/D

样品 (sample)	批次 1 (batch 1)		批次 2 (batch 2)		批次 3 (batch 3)	
	残余滴度	下降滴度	残余滴度	下降滴度	残余滴度	下降滴度 *
	(residual titer) / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	(reduced titer) * / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	(residual titer) / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	(reduced titer) * / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	(residual titer) / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	(reduced titer) / ( $\lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
S/D 处理 0.5 h (S/D treatment 0.5 h)	2.61	1.74	2.80	1.71	2.46	2.18
S/D 处理 1 h (S/D treatment 1 h)	1.66	2.69	2.36	2.15	1.89	2.75
S/D 处理 2 h (S/D treatment 2 h)	< 0.00	> 4.35	0.94	3.57	< 0.00	> 4.64
S/D 处理 4 h (S/D treatment 4 h)	< 0.00	> 4.35	< 0.00	> 4.51	< 0.00	> 4.64
S/D 处理 6 h (S/D treatment 6 h)	< 0.00	> 4.35	< 0.00	> 4.51	< 0.00	> 4.64
A 对照 0 h (control A 0.5 h)	4.35	/	4.51	/	4.64	/
A 对照 6 h (control A 6 h)	4.22	/	4.17	/	4.14	/
B 对照 (control B)	6.39	/	6.32	/	6.13	/
病毒对照 (virus control)	7.28	/	/	/	/	/

注 (note): \*A 对照 0 h 样品滴度与各取样点样品滴度差值 (the difference of titers between each sampling point and control A at 0 h); / 未检测或未计算 (undetected or uncalculated)

3 批含 S/D 样品中辛德毕斯病毒滴度均在 S/D 处理后迅速下降,第 1、3 批处理 2 h 后下降至  $0.00 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,第 2 批处理 4 h 后下降至  $0.00 \lg\text{PFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,见图 1。

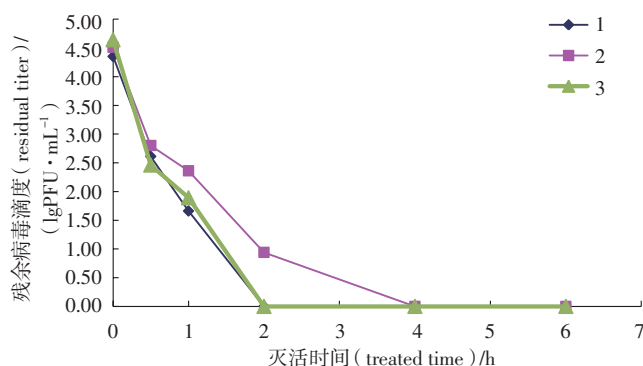


图 1 S/D 处理法灭活含 S/D 样品中辛德毕斯病毒效果动力学曲线  
Fig. 1 Dynamics curves for inactivating Sindbis virus in sample with S/D after S/D treatment

## 2.2 干热法病毒灭活工艺验证

2.2.1 样品处理 取 3 批不含 S/D 样品各 126.0 mL,分别加入 EMCV 或 PPV 14.0 mL 摇匀,分装每瓶 10 mL。冻干前病毒回滴样品分装后放入 -70 °C

冻存,其余样品冻干机冻干。取冻干后样品 2 瓶放入 -70 °C 冻存,其余全部放入水浴灭菌器中分别进行 99.2~99.8 °C 恒温加热处理 5、15、30、45、60 min。

2.2.2 病毒滴度测定 采用微量细胞病变法 (cytopathic effect, CPE)。将待测病毒用含 2% FBS 的 DMEM 进行 10 倍系列稀释后,取适宜稀释度的病毒分别接种至长满单层 ST 细胞和 Vero 细胞的 96 孔细胞板内,每个稀释度接种 8 孔,每孔 0.1 mL,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。7 d 记录 CPE 结果,按 Spearman-Kärber 法计算病毒滴度。

结果显示,3 批不含 S/D 样品加入指示病毒 EMCV 后,经冻干及 99.2~99.8 °C,60 min 加热灭活,5 min 后病毒滴度即降低至检测限 ( $0.50 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ ) 以下。60 min 可使该病毒滴度降低,降低量分别为:  $\geq 5.38 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 、 $\geq 5.12 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 、 $\geq 5.25 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 。

3 批不含 S/D 样品加入指示病毒 PPV 后,经冻干及 99.2~99.8 °C,60 min 加热灭活,可降低该病毒滴度,降低量分别为  $4.57 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 、 $4.18 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 、 $4.68 \lg\text{TCID}_{50}/0.1\text{mL}$ 。具体结果见表 2、3,图 2、3。

表 2 99.2-99.8 °C、60 min 灭活不含 S/D 样品中 EMCV 效果

Tab. 2 Inactivation effect of dry heating on EMCV at 99.2-99.8 °C, 60 min in samples without S/D

处理时间 (treated time)	批次 1 (batch 1)		批次 2 (batch 2)		批次 3 (batch 3)	
	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)
	冻干前 (before freezed)	5.88	/	5.62	/	5.75
冻干后 (after freezed)	1.69	4.19	1.62	4.00	1.94	3.81
5min	≤ 0.50	≥ 5.38	≤ 0.50	≥ 5.12	≤ 0.50	≥ 5.25
15min	≤ 0.50	≥ 5.38	≤ 0.50	≥ 5.12	≤ 0.50	≥ 5.25
30min	≤ 0.50	≥ 5.38	≤ 0.50	≥ 5.12	≤ 0.50	≥ 5.25
45min	≤ 0.50	≥ 5.38	≤ 0.50	≥ 5.12	≤ 0.50	≥ 5.25
60min	≤ 0.50	≥ 5.38	≤ 0.50	≥ 5.12	≤ 0.50	≥ 5.25
病毒对照 (virus control)	6.88	/	/	/	/	/

注 (note): \*. 表示冻干前样品滴度与各取样点病毒滴度差 (the difference of titers between each sampling point and before freezed); /. 未检测或未计算 (undetected or uncalculated)

表 3 99.2-99.8 °C、60 min 灭活不含 S/D 样品中 PPV 效果

Tab. 3 Inactivation effect of dry heating on PPV at 99.2-99.8 °C, 60 min in samples without S/D

处理时间 (treated time)	批次 1 (batch 1)		批次 2 (batch 2)		批次 3 (batch 3)	
	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	残余滴度 (residual titer) / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)	下降滴度 (reduced titer)* / (lgTCID <sub>50</sub> /0.1 mL)
	冻干前 (before freezed)	6.25	/	6.06	/	6.06
冻干后 (after freezed)	5.75	0.5	5.75	0.31	5.94	0.12
5min	5.38	0.87	5.32	0.74	5.38	0.68
15min	5.25	1	5.32	0.74	5.25	0.81
30min	4.25	2	4.25	1.81	4.38	1.68
45min	2.32	3.93	2.12	3.94	1.88	4.18
60min	1.68	4.57	1.88	4.18	1.38	4.68
病毒对照 (virus control)	6.56	/	/	/	/	/

注 (note): \*. 表示冻干前样品滴度与各取样点病毒滴度差 (the difference of titers between each sampling point and before freezed); /. 未检测或未计算 (undetected or uncalculated)

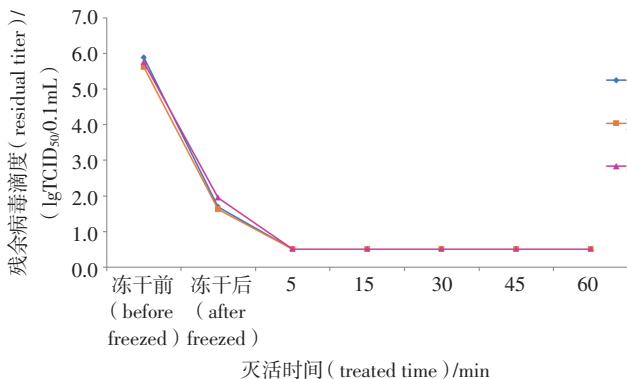


图 2 99.2-99.8 °C、60 min 灭活不含 S/D 样品中 EMCV 效果动力学曲线  
Fig. 2 Dynamics curves for inactivating EMCV virus in sample without S/D after at 99.2-99.8 °C, 60 min

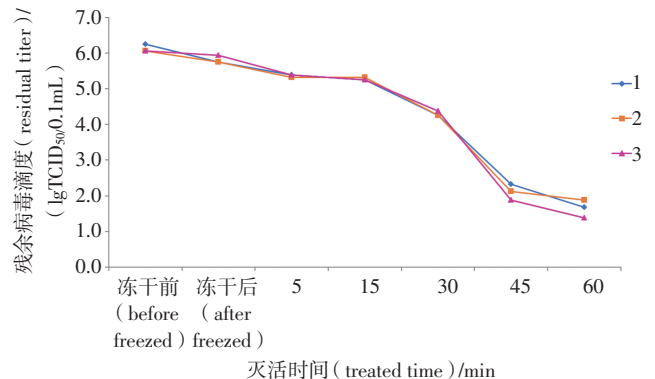


图 3 99.2-99.8 °C、60 min 灭活不含 S/D 样品中 PPV 效果动力学曲线  
Fig. 3 Dynamics curves for inactivating PPV virus in samples without S/D after at 99.2-99.8 °C, 60 min

### 3 讨论

本研究中的 C1-INH 来自人血浆,存在潜在的血浆中脂包膜和非脂包膜病毒污染风险,因此对产品生产工艺除病毒能力提出了要求,而生产上常用的病毒灭活/去除工艺为 S/D 处理法和干热法。因此本研究中应用 S/D 处理法和干热法 2 种方法,对血浆提纯 C1-INH 进行病毒灭活/去除验证,以保证病毒的灭活和去除效果。

S/D 处理法可有效灭活样品中的脂包膜病毒,其原理为 S/D 可溶解病毒外表脂包膜,从而使病毒失去感染能力。S/D 处理法条件相对温和,对样品活性的影响较小,因此被广泛应用于脂包膜病毒的去除。本研究选取脂包膜病毒辛德毕斯病毒为指示病毒,采用 S/D 处理法常用的处理试剂(0.3% TNBP 和 1% 吐温 80),在 24.8~25.0 °C 处理 6 h。研究发现,3 批含 S/D 样品经处理后,样品中病毒滴度迅速降低,2 h 辛德毕斯指示病毒降低量已分别达  $>4.35 \text{ lgPFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $3.57 \text{ lgPFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $>4.64 \text{ lgPFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。2 批病毒降低量( $\log_{10}$ )超过 4 logs 的要求,虽然第 2 批 2 h 病毒降低量( $\log_{10}$ )未达到 4 logs,但也较为接近,下一个取样点(4 h)已达到要求,表示 S/D 法灭活病毒有效,且在时间上有较大的安全余量。分析 3 批样品,批号 1(pH 8.1、蛋白质含量 0.3%),批号 2(pH 8.0、蛋白质含量 0.3%),批号 3(pH 7.6、蛋白质含量 0.3%),未见样品理化性质(pH、蛋白质含量)上有较为明显的差别,因此第 2 批病毒灭活效果稍差的原因仍需进一步研究。

尽管 S/D 可有效灭活脂包膜病毒,但对非脂包膜病毒如 HAV、B19 病毒灭活效果较差<sup>[10]</sup>。而加热灭活法对病毒的灭活是非特异的,对有包膜和无包膜病毒均可灭活,其病毒灭活效果已经得到验证<sup>[11-12]</sup>。因此根据指导原则要求,采用第 2 种方法干热法对非脂包膜病毒进行灭活。研究采用 EMCV 和 PPV 2 种非脂包膜病毒,分别代表非脂包膜 RNA 病毒和非脂包膜 DNA 病毒作为指示病毒进行灭活验证。研究发现,对于 EMCV,冻干后前 2 批病毒滴度降低已达  $4.19 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$  和  $4.00 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,第 3 批为  $3.81 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 。99.2~99.8 °C 加热 5 min 后 3 批病毒滴度均降至检测限  $\leq 0.50 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,降低量分别达  $\geq 5.38 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $\geq 5.12 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $\geq 5.25 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ,证明冻干过程可使 EMCV 病毒滴度下降较多,干热法也能迅速灭活病

毒。而对于 PPV,冻干后并经 99.2~99.8 °C 加热至 60 min 后,病毒滴度才降低 4.0 logs(10)以上(分别为  $4.57 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $4.18 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ 、 $4.68 \text{ lgTCID}_{50}/0.1 \text{ mL}$ ),证明尽管 99.2~99.8 °C 干热 60 min 也能灭活 PPV,但其灭活效果要明显差于 EMCV。

病毒灭活验证中指示病毒 PPV 主要代表人细小病毒 B19,血浆制品中 B19 病毒污染较为普遍,其对物理和化学灭活方法的抵抗力强于脂包膜病毒。Kim 等<sup>[13]</sup>研究发现,F VIII 浓缩剂进行 100 °C 水浴 30 min 处理,可使脂包膜病毒 HIV、BHV 和 BVDV 的滴度分别下降  $\geq 5.15$ 、 $6.13$  和  $4.46 \text{ log}_{10}$ ,使非脂包膜病毒 EMCV 和 HAV 的滴度分别下降  $\geq 5.87 \text{ log}_{10}$  和  $\geq 5.55 \text{ log}_{10}$ ,但仅使 PPV 的滴度下降了  $1.90 \text{ log}_{10}$ ,证明 PPV 非常难以灭活。

干热法对制品进行病毒灭活时,影响因素较多。笔者在以前的研究中发现,尽管不同企业生产的制品产品种类相同,生产工艺相近,但采用干热法时,对病毒的灭活效果却不完全一致。原因可能包括冻干或病毒灭活使用的仪器设备是否可保障制品冻干和加热时的均一性,制品最终容器的大小、分装量、封口形式差异,冻干曲线的差异,制品组分和浓度的差异<sup>[14]</sup>。也有研究发现,冻干制品中残留水分的高低与 B19 病毒对干热处理的抵抗力密切相关<sup>[15-16]</sup>。因此,在采用干热法对制品进行病毒灭活验证时,需考虑各种因素对灭活效果的影响,从而采用合理的工艺,以达到最好的灭活效果。

本研究证明,S/D 法和干热法均可有效灭活血浆提纯 C1-INH 中的脂包膜和非脂包膜病毒,保证制品的安全性。

### 参考文献

- [1] BOWEN T, CICARDI M, FARKAS H, *et al.* 2010 international consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2010, 6(1): 24
- [2] CRAIG T, AYGÖREN-PÜRSÜN E, BORK K, *et al.* WAO guideline for the management of hereditary angioedema [J]. *World Allergy Organ J*, 2012, 5(12): 182
- [3] AZZAM R, BOUTROS J, IRANI C. Hereditary angioedema: a literature review and national management guidelines [J]. *J Med Liban*, 2015, 63(2): 97
- [4] CABALLERO T, FARKAS H, BOUILLET L, *et al.* International consensus and practical guidelines on the gynecologic and obstetric management of female patients with hereditary angioedema caused by C1

- inhibitor deficiency [ J ]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129(2): 308
- [ 5 ] GRANT JA, WHITE MV, LI HH, *et al.* Preprocedural administration of nanofiltered C1 esterase inhibitor to prevent hereditary angioedema attacks [ J ]. *Allergy Asthma Proc*, 2012, 33(4): 348
- [ 6 ] RIEDL MA, HUREWITZ DS, LEVY R, *et al.* Nanofiltered C1 esterase inhibitor (human) for the treatment of acute attacks of hereditary angioedema: an open-label trial [ J ]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2012, 108(1): 49
- [ 7 ] SINGER M, JONES AM Bench-to-bedside review: the role of C1-esterase inhibitor in sepsis and other critical illnesses [ J ]. *Crit Care*, 2011, 15(1): 203
- [ 8 ] 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 [ S/OL ]. ( 2008-09-04 ) [ 2024-11-19 ]. <https://www.cde.org.cn/zdylz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=1df43aa707869a9c8bc11afe1ed48ff1>  
CENTER FOR DRUG EVALUATION. Guidelines for Methods and Validation of Virus Removal/inactivation from Blood Product [ S/OL ]. ( 2008-09-04 ) [ 2024-11-19 ]. <https://www.cde.org.cn/zdylz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=1df43aa707869a9c8bc11afe1ed48ff1>
- [ 9 ] WHO. Guidelines on Viral Inactivation and Removal Procedures Intended to Assure the Viral Safety of Human Blood Plasma Products [ S/OL ]. ( 2009-07-06 ) [ 2024-11-19 ]. [https://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO TRS 924 A4.pdf](https://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_924_A4.pdf)
- [ 10 ] NISHIZAWA T, OKAMOTO H, KONISHI K, *et al.* A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241(1): 92
- [ 11 ] 卜凤荣, 于军, 宿艳笋. 血浆制品中人细小病毒 B19 的灭活 / 去除研究进展 [ J ]. *国际生物制品学杂志*, 2009 ( 6 ): 320  
BU FY, YU J, SU YS. The progress in research of the inactivation/removal of human parvovirus B19 in plasma-derived products [ J ]. *Int J Biol*, 2009(6): 320
- [ 12 ] 张延莹, 李宏昊, 姜燕. 血液制品灭活及去除病毒工艺 [ J ]. *中国生化药物杂志*, 2002, 23 ( 4 ): 207  
ZHANG YY, LI HH, JIANG Y. Review of processing about inactivation and removal of virus from blood products [ J ]. *Chin J Biochem Pharm*, 2002, 23(4): 207
- [ 13 ] KIM IS, CHOI YW, KANG Y, *et al.* Dry-heat treatment process for enhancing viral safety of an antihemophilic factor VIII concentrate prepared from human plasma [ J ]. *J Microbiol Biotechnol*, 2008, 18(5): 997
- [ 14 ] 杨立宏, 岳广智, 徐宏山, 等. 终端干热法灭活凝血因子类制品中细小病毒的工艺验证 [ J ]. *中国生物制品学杂志*, 2010, 23 ( 9 ): 4  
YANG LH, YUE GZ, XU HS. Validation of procedure for inactivation of parvovirus in coagulation factor products by terminal dry heating [ J ]. *Chin J Biol*, 2010, 23(9): 4
- [ 15 ] PRIKHOD'KO GG. Dry-heat sensitivity of human B19 and porcine parvoviruses [ J ]. *Transfusion*, 2005, 45(10): 1692
- [ 16 ] ROBERTS PL, EL HANA C, SALDANA J. Inactivation of parvovirus B19 and model viruses in factor VIII by dry heat treatment at 80 degrees C [ J ]. *Transfusion*, 2006, 46(9): 1648

( 本文于 2024 年 7 月 17 日收到 )