



中华人民共和国医药行业标准

YY 0765.1—2009

一次性使用血液及血液成分病毒灭活器材 第 1 部分：亚甲蓝病毒灭活器材

Sets for inactivation of viruses in blood and blood components for single use
Part 1: Sets for virus photodynamic inactivation with methylene blue

2009-12-30 发布

2011-06-01 实施

国家食品药品监督管理局 发布

前 言

本部分的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E、附录 F、附录 G 和附录 H 均为规范性附录。

本部分由国家食品药品监督管理局提出。

本部分由全国医用输液器具标准化技术委员会(SAC/TC 106)归口。

本部分起草单位:上海市血液中心、上海输血技术有限公司、山东省医疗器械产品质量检验中心。

本部分参加起草单位:浙江余姚意博医疗器械有限公司、淄博中保康医疗器械有限公司、山东威高集团医用高分子制品股份有限公司、南京双威生物医学科技有限公司、南京赛尔金生物医学有限公司、张家港高力特医疗器械有限公司、中国医学科学院输血研究所。

本部分主要起草人:姜跃琴、许亚勇、黄宇闻、路志浩、由少华、谢如锋、陈晓通、胡政芳、钱毅、王辉、王红。

引 言

亚甲蓝是中国药典收录的可静脉注射药物,临床上主要用于甲状腺造影和治疗氰化物、亚硝酸盐中毒等。上世纪 30 年代 Clifton 和 Perdrau 等人的研究证明:亚甲蓝在可见光的协同作用下可以灭活病毒。其作用机理是:亚甲蓝可与病毒核酸的鸟嘌呤以及病毒的脂质包膜相结合,在达到剂量的可见光作用下,使病毒核酸断裂、包膜破损,从而达到病毒灭活的作用。近二十多年来的实践证实,亚甲蓝光化学方法能使大多数脂质包膜病毒和部分非脂质包膜病毒灭活,并且对血浆中的有效组分无明显不良影响,如凝血因子活性、蛋白质含量、蛋白免疫原性等。从 1992 年起,欧洲一些国家和近年来我国已将经亚甲蓝光化学法灭活病毒的单人份血浆用于临床,其灭活病毒所需亚甲蓝浓度均控制为 $1\mu\text{mol/L}$ 血浆。然而添加亚甲蓝的血浆经光照射后呈淡灰色,容易给患者心理上造成压力,因此必须去除血浆中添加的光敏剂—亚甲蓝,并同时滤除白细胞,以确保病毒灭活血浆的安全性、有效性和可靠性。

采用亚甲蓝光化学法灭活临床输注用血浆中的病毒是一个复合工艺过程,主要涉及:①在血浆中添加能对病毒产生作用的光敏剂—亚甲蓝;②使光敏剂产生作用,需达到一定能量的发光源设备—医用病毒灭活设备(或血液恒温照射箱)。发光源设备涉及光源的波长、对被照射物的光照强度、载体(血袋)的透光率和光照时间等;③去除光敏剂(亚甲蓝)并滤除白细胞的吸附滤器等。

本部分规定的亚甲蓝病毒灭活器材是一种与具备产生可见光的病毒灭活设备配合使用,为采供血、临床医疗机构等制备临床输注用病毒灭活血液/血液成分的器材,其主要功能是在亚甲蓝光化学法灭活血液病毒前向血液或血液成分中添加光敏剂(亚甲蓝)、在经光照射后吸附血液或血液成分中的光敏剂(亚甲蓝),并滤除其中的白细胞。本部分所规定的亚甲蓝释放量是国际上公认的达到最佳灭活效果的关键参数。光照袋的透光率可反映接受光照剂量的比例,实际血浆接收的光照剂量为光照剂量与透光率的乘积,因而光照袋的透光率也是病毒灭活效果的关键参数。

需要注意的是,亚甲蓝病毒灭活器材与适用的医用病毒灭活设备配合使用才具有病毒灭活的功效,宜按国家相关规定对病毒灭活效果进行确认。

还需要注意的是,除了对病毒灭活效果可靠外,对血浆质量及功能无明显不良影响和对人体安全等也是临床输注用血浆病毒灭活后的基本评价原则。病毒灭活器材制造商应对病毒灭活后的血浆质量及功能进行无明显不良影响和输注安全性确认,病毒灭活处理后血浆应符合国家相关规定。

一次性使用血液及血液成分病毒灭活器材

第 1 部分:亚甲蓝病毒灭活器材

1 范围

本部分规定了一次性使用亚甲蓝病毒灭活器材的通用要求、标记、材料、要求、检验规则、标志和包装等。

本部分适用于一次性使用亚甲蓝病毒灭活器材(以下简称病毒灭活器材)。病毒灭活器材与医用病毒灭活设备(血液恒温照射箱)配合使用,采用亚甲蓝光化学方法对符合 GB 18469 要求的血浆及血浆制品中可能存在的病毒进行灭活,并吸附添加的光敏剂和滤除白细胞。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB 8368 一次性使用输液器 重力输液式(GB 8368—2005,ISO 8536-4:2004,MOD)

GB 8369 一次性使用输血器(GB 8369—2005,ISO 1135-4:2004,IDT)

GB 14232. 1—2004 人体血液及血液成分袋式塑料容器 第 1 部分:传统型血袋(ISO 3826-1:2003,IDT)

GB/T 14233. 1 医用输液、输血、注射器具检验方法 第 1 部分:化学分析方法

GB/T 14233. 2 医用输液、输血、注射器具检验方法 第 2 部分:生物学试验方法

GB/T 16886. 1 医疗器械生物学评价 第 1 部分:评价与试验(GB/T 16886. 1—2001,ISO 10993-1:1997,IDT)

GB 18469 全血及成分血质量要求

YY/T 0313 医用高分子制品 包装、标志、运输和贮存

YY 0329 一次性使用去白细胞滤器

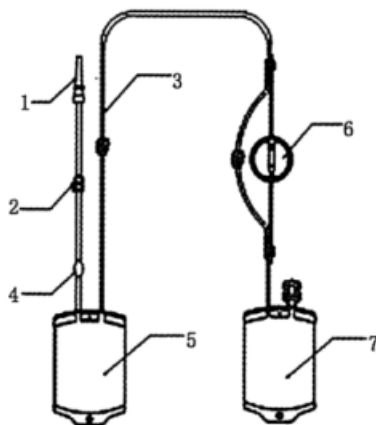
YY 0466 医疗器械 用于医疗器械标签、标记和提供信息的符号(YY 0466—2003,ISO 15223:2000,IDT)

中华人民共和国药典 2005 年版二部

3 通用要求

3.1 结构型式

图 1 给出了病毒灭活器材结构示例,并非为本部分所规定的唯一型式。



- 1—穿刺器；
- 2—止流夹；
- 3—管路；
- 4—亚甲蓝释放件(简称 MB 释放件)；
- 5—光照袋；
- 6—吸附滤器；
- 7—贮血袋。

注：如无特别注明，光照袋和贮血袋简称血袋。

图 1 病毒灭活器材基本构型示意图

3.2 标记

符合本部分要求的病毒灭活器材的标记由识别文字“病毒灭活器材”、本部分编号、亚甲蓝英文字母代码(MB)、血液成分代号(如血浆 P)、吸附滤器代号(F)和一次处理血浆量的代号(如 1 单位为 01, 2 单位为 02, 1.5 单位为 03)表示。

示例：符合本部分要求、处理 1 单位血浆的亚甲蓝病毒灭活器材的标记为：

病毒灭活器材 YY 0765. 1 MB—PF—01

注：1 单位、1.5 单位、2 单位分别指由 200mL 全血、300mL 全血、400mL 全血分离出的血浆。

4 材料

病毒灭活器材及各组件的材料应满足第 6 章的要求，与血液和血液成分接触的组件还应符合第 7 章和第 8 章的要求。

注：相关材料标准见参考文献。

5 灭菌

5.1 灭菌方法不应对病毒灭活器材的材料和光敏剂产生不良影响，且不使各连接处松动、塑料材料热合强度下降和血袋、组件产生明显变形。

5.2 制造商应能向国家主管部门提供所用灭菌过程有效性的证据。每个灭菌批中应包括检查灭菌有效性的阳性对照。

6 物理性能

6.1 外观

6.1.1 通过正常视力或矫正视力检查，病毒灭活器材结构应完整、密闭，各出入口应有保护套，以确保内腔不受污染。

6.1.2 管路应塑化均匀,无裂纹、气泡、扭结或其他缺陷,并透明或足够透明,当有气泡通过时,用正常或矫正视力可以发现水和空气的分界面。

6.1.3 吸附滤器和 MB 释放件外壳应光洁,无明显机械杂质、异物、裂纹,焊接面应均匀、无气泡。

6.1.4 血袋应无明显可见的杂质、斑点、气泡,表面应平整,血袋内壁应不粘连,热合线应透明均匀,悬挂孔应规整。

6.2 微粒污染

病毒灭活器材应在最小微粒污染条件下生产。符合图 1 基本构型的病毒灭活器材,每套自穿刺器加入 250mL 的蒸馏水或质量浓度 9g/L 氯化钠溶液,流过 MB 释放件、光照袋、滤器至贮血袋,排去贮血袋内空气的袋内液体作为微粒检验液。按 YY 0329 附录 A 微粒计数仪方法对检验液中的大于 $25\mu\text{m}$ 、大于 $10\mu\text{m}$ 和大于 $5\mu\text{m}$ 的微粒进行计数时,250mL 检验液中,大于 $25\mu\text{m}$ 的微粒数不应超过 1 个/mL,大于 $10\mu\text{m}$ 的微粒数不应超过 10 个/mL,大于 $5\mu\text{m}$ 的微粒数不应超过 150 个/mL。

6.3 密合性

6.3.1 将除血袋外的管路和吸附滤器的一端封口,另一端通入高于大气压 50kPa 的气体,浸入 $20^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ 水中,持续 2min,应无气体泄漏迹象。

6.3.2 血袋充水至公称容量并密封后,将袋放在两平板之间进行挤压,在 $(23\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 条件下,使内部压力升高于大气压强 50kPa,持续 10min,应不产生泄漏。

对于软聚氯乙烯(PVC)血袋,宜在 4°C 下重复进行上述试验。

6.4 连接牢固度

6.4.1 病毒灭活器材各连接处(保护套除外)应能承受 15N 静态轴向拉力,持续 15s 不得断裂和脱落。

6.4.2 血袋充水至公称容量并密封后,与血袋连接的管路应形成密封,并且连接处抗泄漏,能承受施加到管路上的 20N 的拉力,持续 15s 无泄漏。施加拉力时应与连接处边缘成直角,且在血袋平面纵轴方向上。试验在 $(23\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 条件下进行。

连接处应无泄漏,血袋还应满足 6.3.2 中规定的要求。

6.5 吸附滤器流量

吸附滤器连接到符合 GB 8369 要求的输血器上,在 1m 静压头、溶液温度 $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 下,启动后的 30min 内应能输送质量浓度 400g/L 的葡萄糖水溶液不少于 700mL。

注:启动是指流过吸附滤器的葡萄糖水溶液成连续液流时。

6.6 穿刺器

若有穿刺器,穿刺器的设计应与符合 GB 14232.1—2004 规定的血袋的输血插口紧密配合,并保证在使用过程中不脱落。在按附录 A 试验时,穿刺器与输血插口连接处应无泄漏迹象。

6.7 保护套

若有穿刺器,穿刺器上应有保护套,保护套不应自然脱落,并易于拆除。

6.8 止流夹

止流夹在关闭时,应能阻断 50kPa 气体及液体的流通,并且开启后不损坏软管,保证液体畅通。

6.9 光照袋透光率

光照袋按附录 B 试验时,透光率应不小于 85%。

6.10 血袋

6.10.1 输血插口

贮血袋若有输血插口,应满足 GB 14232. 1—2004 中 5.8 规定的要求。

6.10.2 悬挂孔

血袋上应有适宜的悬挂孔或其他悬挂装置,应能承受 20N 的静态轴向拉力,持续 60min 不断裂。

6.10.3 热稳定性

将贮血袋充入水至公称容量的一半,贮血袋应能承受缓慢冷冻至 -80°C 的低温环境,并贮存 24h,随后浸入 $(37\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 60 min,然后再恢复至室温,贮血袋应仍能满足 6.3.2、6.4.2 和 6.10.2 的要求。

6.10.4 透明度、色泽

血袋应符合 GB 14232. 1—2004 中 6.2.3 和 6.2.4 的要求。

6.10.5 水蒸气透出

血袋应符合 GB 14232. 1—2004 中 6.2.6 的要求。

6.10.6 加压排空

向贮血袋内充入温度为 $(23\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 的水至公称容量,并使输血插口与符合 GB 8369 规定的输血器连接(见 6.10.1),当将其放在两板之间,逐渐挤压至内部压强高于大气压 50kPa 时,2min 内应能排空而无泄漏。

6.11 血浆损失量

按附录 C 试验时,血浆处理量为 1 单位的病毒灭活器材,其血浆损失量应不大于 12%;血浆处理量大于 1 单位的病毒灭活器材,其血浆损失量应不大于 10%。

7 化学性能

7.1 吸附滤器

按 D.1 制备检验液并按 YY 0329 规定方法检验时,还原物质(易氧化物)、金属离子、酸碱度、蒸发残渣、紫外吸光度应符合 YY 0329 要求。

7.2 血袋

按 D.2 制备检验液并按 GB 14232. 1—2004A.4 方法检验时,还原物质(易氧化物)、铵离子、氯离子、金属离子、重金属、酸碱度、蒸发残渣、浊度、色泽、紫外(UV)吸收应符合 GB 14232. 1—2004 表 3 的要求。

按 GB 14232. 1—2004 中附录 A.4.10 方法检验时,醇溶出物(DEHP)含量应符合 GB 14232. 1—2004 表 3 的要求。

7.3 亚甲蓝释放量

按附录 E 试验时,亚甲蓝释放量应为 $0.9\mu\text{mol/L}\sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 。

7.4 亚甲蓝残留量

按附录 F 试验时,亚甲蓝残留量应小于处理前亚甲蓝含量的 15.0%。

8 生物性能

8.1 无菌

病毒灭活器材应经过蒸汽灭菌或其他确认过的方法灭菌,使产品无菌。

注:GB/T 14233.2 规定了无菌试验方法,但该方法不宜用于出厂检验。

8.2 细菌内毒素

按 GB/T 14233.2 试验时,符合图 1 基本构型的病毒灭活器材,每套注入细菌内毒素检查用水不超过 100mL,细菌内毒素限量应小于 0.5EU/mL。

8.3 微生物不透过性

按 GB 14232.1—2004 C.2 试验时,血袋应不透过微生物。

8.4 剩余白细胞数

8.4.1 血浆样品:取亚甲蓝残留量检测用“处理后血浆”(见 F.1.3.1.2),并测定全部流过吸附滤器至贮存血袋内“处理后血浆”的体积(mL)。

8.4.2 剩余白细胞计数:按 YY 0329 中附录 D 或附录 E 的方法对血浆样品进行检验时,血浆样品的稀释比例应不大于 1:4。

8.4.3 剩余白细胞数应小于 5.0×10^5 个/单位。

8.5 血浆总蛋白回收率

按附录 G 或其他等效的双缩脲法(如双缩脲试剂盒方法)或用生化仪试验时,血浆总蛋白回收率应不小于 90%。

8.6 FⅧ:C 回收率

按附录 H 方法或用血凝仪试验时,FⅧ:C 回收率应不小于 70%。

8.7 生物相容性

与血浆接触的部件应不释放出任何对人体有不良作用的物质。应按照 GB/T 16886.1 对下列项目进行评价:

- a) 细胞毒性;
- b) 致敏;
- c) 皮内反应;
- d) 急性全身毒性;
- e) 热原;
- f) 血液相容性;

g) 溶血试验:吸附滤器按 YY 0329 附录 J 的方法检验时,溶血率应小于 5%;血袋按 GB 14232.1—2004 C.5 试验时,试验液的吸光度与对照液吸光度之差应不超过 10%。

其他生物学试验应按 GB/T 14233.2 或 GB/T 16886 中规定方法进行。

注：参考文献中给出了适用的生物学试验方法标准。

9 检验规则

9.1 在下列情况下应进行型式检验：

- a) 新产品投产、材料来源或配方改变时；
- b) 结构、关键零配件、工艺有重大改变时；
- c) 连续生产中每年不少于一次；
- d) 停产半年以上恢复生产时；
- e) 合同规定或管理部门要求时。

9.2 型式检验时生物相容性评价应按 GB/T 16886.1 规定的基本原则进行。血浆损失量(6.11)、剩余白细胞数(8.4)、血浆总蛋白回收率(8.5)、FⅧ:C 回收率(8.6)随机检验 3 套。物理性能若无特殊规定：随机检验 5 套。

9.3 所有型式检验项目均合格，则通过型式检验。型式检验未通过时，不应进行批量生产。

10 标志、标签

10.1 标志

10.1.1 单包装上应至少有下列信息：

- a) 文字说明内装物、产品标记；
- b) 无菌、灭菌方法、无热原、一次性使用的文字说明或使用 YY 0466 中给出的图形符号；
- c) 批号，以“批”或“LOT”开头；
- d) 失效年月(必须能清晰识别)；
- e) 使用说明(包括与本产品配套使用的医用病毒灭活设备要求)、注意事项和相关警示说明；
- f) 制造商和/或经销商名称、地址。

10.1.2 外包装上应至少有下列信息：

- a) 文字说明内装物；
- b) 贮存条件；
- c) 批号；
- d) 失效年月；
- e) 制造商和/或经销商名称、地址。

10.2 贮血袋标签

10.2.1 标签上信息应符合 GB 14232.1—2004 中 8.2 b)、c)、d)、e)、f)、g)、h)、i)项规定的要求，但若标签的空间太小，d)、e)、f)、和 g)项允许在使用说明书中给出而不用在标签上给出。

10.2.2 标签还应符合 GB 14232.1—2004 中 8.5 规定的要求。

11 包装

11.1 病毒灭活器材的包装应符合 YY/T 0313 的相关规定。

11.2 病毒灭活器材应采用适宜的包装，使其在贮存期内保持无菌。

11.3 每套病毒灭活器材应为单包装，且包装打开后应留有打开过的迹象。管路应无扁瘪。

12 亚甲蓝

病毒灭活器材所用亚甲蓝应符合《中华人民共和国药典》的要求。

附 录 A

(规范性附录)

穿刺器与输血插口适配性

取符合 GB 14232. 1—2004 要求、公称容量为 500mL 的塑料血袋,充入温度为 $(23\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 的水至公称容量,穿刺器经输血插口刺入塑料血袋,将塑料血袋放在两板之间,逐渐挤压至血袋内部压强高于大气压 50kPa,持续 2min,观察穿刺器与输血插口连接处有无泄漏迹象。

附录 B
(规范性附录)
光照袋透光率试验方法

B.1 方法一:分光光度计法(仲裁法)**B.1.1 方法提要**

光照袋的光照面置于带积分球检测器的分光光度计光路的比色槽中,测试其在波长为 661nm 时的透光率。

注:带积分球检测器的分光光度计所测得的透光率包括了光的透射率和漫透射率等,普通分光光度计(即不带积分球检测器的分光光度计)所测得的透光率只包括光的透射率。

B.1.2 仪器

带积分球的分光光度计。

B.1.3 步骤

B.1.3.1 将带积分球的检测器接入仪器中,并按要求预热、调试。

B.1.3.2 调节波长 661nm,以空气透光率为 100%。

B.1.3.3 在光照袋的光照面上任意剪取三块试样(大小可视比色槽而定,以遮住光路)。

B.1.3.4 将试样置于光路比色槽中,光照袋外表面朝向光源,所示值为透光率($T, \%$)。

B.1.4 结果计算

取三次测试平均值作为试样 661nm 的透光率结果。

注:当光照袋用普通分光光度计测得的透光率已经达到 85%时,则可以判定透光率符合要求。

B.2 方法二:照度计法**B.2.1 方法提要**

用光照袋的光照面置于病毒灭活所用的光源和照度计探头之间进行光线遮挡,遮挡后与遮挡前的光照强度之比即为光照袋的透光率。

B.2.2 仪器、设备

照度计(量程范围符合病毒灭活所需的光照强度)、光源设备(将实际血浆病毒灭活所用的光源置于合适的箱体中,也可直接用医用病毒灭活设备)。

注:照度计的探头与光源的位置应适宜,以满足照度计探头上接收到的光照强度为病毒灭活所需的范围。

B.2.3 步骤

B.2.3.1 将照度计探头固定在箱体内的适宜位置,开启光源,预热。当照度计上的数字显示稳定后,记下读数(A_0, lx)。

B.2.3.2 在光照袋的光照面上任意剪取三块试样(大小可覆盖照度计探头)。

B.2.3.3 将试样放在光源和照度计的探头之间,光照袋内表面覆盖探头的光敏面,当照度计上的数字显示稳定后,记下读数(A_1, lx)。

B.2.4 结果计算

按式(B.1)计算试样的透光率($T, \%$),取三次测试平均值作为试样的透光率结果:

$$T = \frac{A_1}{A_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

T ——试样的透光率,单位为%;

A_0 ——遮挡前的光照强度,单位为 lx;

A_1 ——遮挡后的光照强度,单位为 lx。

附 录 C
(规范性附录)
血浆损失量测定方法

C.1 方法提要

血浆在通过病毒灭活器材处理过程中,可能会由于血浆滞留在吸附滤器、管路、袋体或其他因素造成血浆的损失。本试验通过测定血浆经病毒灭活器材处理前、后重量的变化来评价病毒灭活器材对血浆的损失。

C.2 试验仪器、血浆

C.2.1 试验仪器:天平(精度 0.1g)

C.2.2 血浆:为 3 人份或 3 人份以上的混合冰冻血浆。

C.3 操作步骤

注:测血浆损失量用同套病毒灭活器材处理前和处理后血浆的重量计算。

C.3.1 供试血浆制备

C.3.1.1 处理前血浆制备

将 C.2.2 的血浆于 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴融化,当血浆温度为 $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$,擦干血浆袋外的水迹,称重(W_{01} , g)。按制造商使用说明中的操作方法将穿刺器刺入上述血浆袋的输血插口内,使血浆通过 MB 释放件充入光照袋内,产品标记为 01 的加入 100mL 血浆,产品标记为 02 的加入 200mL 血浆,产品标记为 03 的加入 150mL 血浆。再将上述血浆袋称重(W_{02} , g)。并按 C.1 计算处理前血浆重量(W_0 , g)。同时制备 3 个平行样品。

C.3.1.2 处理后血浆制备

将光照袋内的血浆按制造商使用说明中的操作方法处理血浆至贮血袋,取下贮血袋称重(W_{11} , g),再取一输血器刺入贮血袋的输血插口内,将贮血袋内血浆排出,称重空贮血袋(W_{12} , g)。并按 C.2 计算处理后血浆重量(W_1 , g)。

C.3.2 血浆重量计算

按式(C.1)计算处理前血浆重量:

$$W_0 = W_{01} - W_{02} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

W_0 ——处理前血浆重量,单位为克(g);

W_{01} ——含血浆的血浆袋重量,单位为克(g);

W_{02} ——空血浆袋重量,单位为克(g);

按式(C.2)计算处理后血浆重量:

$$W_1 = W_{11} - W_{12} \dots\dots\dots (C.2)$$

式中:

W_1 ——处理后血浆重量,单位为克(g);

W_{11} ——含血浆的贮血袋重量,单位为克(g);

W_{12} ——空贮血袋重量,单位为克(g);

C.3 结果计算

按式(C.3)计算血浆损失量(δ):

$$\delta = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100 \dots\dots\dots (C.3)$$

式中:

δ ——血浆损失量,%;

W_0 ——处理前血浆样品重量,单位为克(g);

W_1 ——处理后血浆样品重量,单位为克(g)。

附 录 D
(规范性附录)
化学性能检验液制备

D.1 吸附滤器检验液

取三套灭菌后的病毒灭活器材的吸附滤器与一个 500mL 的玻璃烧瓶连成一个封闭的循环系统,烧瓶内加入 350mL 水,并保持在 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$,通过一蠕动泵作用于一段尽可能短的医用硅橡胶泵管上,使水以 1L/h 的流量循环 2h,收集全部液体并冷却,即得吸附滤器检验液。

取同体积水置于玻璃烧瓶中,不装样品同法制备作为对照液(空白液)。

D.2 血袋检验液

D.2.1 采用蒸汽灭菌的血袋

D.2.1.1 供试材料应取自未经灭菌的空血袋或用于制造血袋的塑料薄片。

D.2.1.2 先后两次向空血袋内充入公称容量的注射用水,振摇约 1min 后排空袋体。洗涤液排空后,向袋内充入公称容量的注射用水。然后挤压袋体,排出袋中残存空气并密封。在加压的、 $(121\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的饱和蒸汽下浸提袋体至少 30min。加热和冷却时间不包括在 30min 循环时间内。将各袋浸提液汇集于一玻璃容器中,混合均匀,即为血袋检验液。取 250mL 的注射用水放于玻璃烧瓶中,同法在加压的、 $(121\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 下处理 30min 作对照液(空白液)。

D.2.1.3 也可用血袋塑料薄片进行浸提。所用薄片的总表面积为 1500cm^2 (包括塑料薄片的两个表面)。用 100mL 的注射用水清洗材料两次,并将洗涤液弃去。将薄片浸入 250mL 的注射用水中,在加压的、 $(121\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的饱和蒸汽下浸提 30min。以同样的方式处理注射用水,作为对照液(空白液)。

D.2.2 采用蒸汽灭菌以外方式灭菌的血袋

D.2.2.1 若使用蒸汽灭菌以外的灭菌方法,如 γ 射线、环氧乙烷、电子束灭菌,供试材料应取自灭过菌的血袋。

D.2.2.2 检验液制备同 D.2.1.2 的方法。

附 录 E
(规范性附录)
亚甲蓝释放量测定方法

E. 1 方法一:血浆介质法(仲裁法)

E. 1. 1 方法提要

血浆介质法测定亚甲蓝(MB)释放量是通过用固相提取一分光光度法,测定血浆经 MB 释放件后血浆中的亚甲蓝含量,以评价病毒灭活器材能否达到病毒灭活血浆所需的亚甲蓝有效浓度。

采用固相提取一分光光度法是为了排除血浆蛋白、脂肪和其他杂质的干扰,通过固相选择性萃取血浆中的亚甲蓝,用极性合适的溶液洗脱下固相中的亚甲蓝,以分光光度计比色测定洗脱液中的亚甲蓝浓度,从而精密定量血浆中的亚甲蓝释放量。

E. 1. 2 试验仪器、试剂

E. 1. 2. 1 试验仪器:固相提取柱及配套的固相提取装置(推荐使用 Waters Oasis HLB 小柱)、分光光度计、离心机。

E. 1. 2. 2 试剂:亚甲蓝对照品、甲醇、乙酸。

E. 1. 2. 3 血浆:为 3 人份或 3 人份以上的混合冰冻血浆。

E. 1. 3 操作步骤

E. 1. 3. 1 供试血浆制备

将 E. 1. 2. 3 的血浆于 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴融化,当血浆温度为 $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$,加入至空血袋内。产品标记为 01 的加入 100mL 血浆,产品标记为 02 的加入 200mL 血浆,产品标记为 03 的加入 150mL 血浆。

按制造商使用说明中的操作方法将穿刺器刺入上述空血袋的输血插口内,使血浆通过 MB 释放件全部充入光照袋,并使其混匀,即为亚甲蓝释放量检测用供试血浆。同时制备 3 个平行样品。

E. 1. 3. 2 亚甲蓝标准浓缩储备液(1.0mmol/L)制备

精密称取亚甲蓝对照品 38.0mg,用水溶解并稀释至 100mL。亚甲蓝标准浓缩储备液浓度(SCC)计算见式(E. 1):

$$\text{SCC}(\text{mmol/L}) = \frac{WP(1-\text{DWR})}{320 \times 0.1} \quad \text{..... (E. 1)}$$

式中:

W——亚甲蓝对照品称重,单位为毫克(mg);

P——亚甲蓝对照品纯度,%;

DWR——亚甲蓝对照品干燥失重率,%;

320——亚甲蓝分子量;

0.1——体积换算系数。

E. 1. 3. 3 标准血浆制备

精密量取 1.0mmol/L 亚甲蓝标准浓缩储备液用血浆稀释,配成亚甲蓝浓度(C)为 $1.0\mu\text{mol/L}$ 的标准血浆。制备 3 个平行样品。

E. 1. 3. 4 固相提取法制备标准样品及供试样品

取 1cc Waters Oasis 小柱,用 2mL 的甲醇(色谱纯)活化,加入 2mL 的标准血浆(E. 1. 3. 3),萃取亚甲蓝;用 2mL 体积分数 30% 的甲醇溶液清洗,随后用 2mL 体积分数 1% 的乙酸甲醇溶液洗脱,将洗脱液在 3500r/min 下离心 5min,取上清液作为标准样品。

用供试血浆同法制得供试样品。

E.1.3.5 分光光度计比色测定

以体积分数为1%的乙酸甲醇溶液为空白,分别测定标准样品和供试样品在653nm处的吸光度。

E.1.3.6 结果计算

取3个平行样品吸光度的平均值,按式(E.2)计算亚甲蓝释放量(RA):

$$RA(\mu\text{mol/L}) = \frac{A_1 C}{A_0} \dots\dots\dots (E.2)$$

式中:

A_1 ——供试样品吸光度;

A_0 ——标准样品吸光度;

C ——标准样品亚甲蓝浓度,单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$)。

E.2 方法二:羟乙基淀粉介质法

E.2.1 方法提要

羟乙基淀粉介质法测定亚甲蓝释放量是以羟乙基淀粉溶液代替血浆,收集并测定经MB释放件后羟乙基淀粉溶液中亚甲蓝含量,作为病毒灭活器材的亚甲蓝释放量。羟乙基淀粉介质法是以模拟的方法评价病毒灭活器材能否达到病毒灭活血浆所需的亚甲蓝的有效浓度。

羟乙基淀粉溶液不存在血浆蛋白、脂肪和其他杂质的干扰问题,因此不需要采用固相提取—分光光度法,可以直接以分光光度计比色测定羟乙基淀粉溶液中的亚甲蓝浓度,从而推算出血浆中的亚甲蓝释放量。

E.2.2 试验仪器、试剂

E.2.2.1 试验仪器:分光光度计。

E.2.2.2 试剂:亚甲蓝对照品。

E.2.2.3 羟乙基淀粉溶液:市售羟乙基淀粉20氯化钠注射液。

E.2.3 操作步骤

E.2.3.1 亚甲蓝释放量供试样品制备

以羟乙基淀粉溶液替代血浆,按E.1.3.1步骤制备,光照袋内液体即为亚甲蓝释放量检测用供试样品。制备3个平行样品。

E.2.3.2 标准曲线样品制备

精密量取亚甲蓝标准浓缩储备液(E.1.3.2),用羟乙基淀粉溶液稀释,配成浓度为(1.5、1.25、1.0、0.75、0.50) $\mu\text{mol/L}$,作为亚甲蓝释放含量的标准曲线样品。

E.2.3.3 分光光度计比色测定

以羟乙基淀粉溶液为空白,分别测定标准曲线样品和供试样品在661nm处的吸光度。

E.2.3.4 结果计算

取3个平行样品吸光度的平均值,由标准曲线计算出供试样品亚甲蓝含量(MCC),按式(E.3)计算供试样品亚甲蓝释放量(RA):

$$RA(\mu\text{mol/L}) = MCC \times r \dots\dots\dots (E.3)$$

式中:

MCC——供试样品亚甲蓝含量;单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$)。

r ——释放量测定中羟乙基淀粉法与血浆法的相关系数。

制造商应验证出羟乙基淀粉介质法和血浆介质法测定亚甲蓝释放量的对应关系,并得出两种方法之间的相关系数。

附 录 F
(规范性附录)
亚甲蓝残留量测定方法

F. 1 方法一:血浆介质法(仲裁法)

F. 1. 1 方法提要

血浆介质法测定亚甲蓝残留量是通过用固相提取一分光光度法,测定含 $0.9\mu\text{mol/L}\sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 亚甲蓝的血浆经光照处理、吸附滤器吸附后血浆中的亚甲蓝含量,并与光照处理前血浆中亚甲蓝作比较,以评价病毒灭活器材吸附亚甲蓝的效果。

采用固相提取一分光光度法是为了排除血浆蛋白、脂肪和其他杂质的干扰,通过固相选择性萃取血浆中的亚甲蓝,用极性合适的溶液洗脱下固相中的亚甲蓝,以分光光度计比色测定洗脱液中的亚甲蓝浓度,从而精密定量血浆中的亚甲蓝残留量。

F. 1. 2 试验仪器、试剂

同 E. 1. 2。

F. 1. 3 操作步骤

F. 1. 3. 1 供试血浆制备

注:测亚甲蓝残留量用同套病毒灭活器材处理前和处理后血浆中的亚甲蓝含量计算。

F. 1. 3. 1. 1 处理前血浆

供试验用病毒灭活器材亚甲蓝残留量的处理前血浆可以直接取用 E. 1. 3. 1 光照袋内的血浆。当此血浆亚甲蓝含量经亚甲蓝释放量检测后符合 $0.9\mu\text{mol/L}\sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 时,可用原套病毒灭活器材按照 F. 1. 3. 1. 2 制备处理后血浆。

当上述光照袋内血浆中亚甲蓝含量不符合 $0.9\mu\text{mol/L}\sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 时,可用亚甲蓝对照品以血浆配成亚甲蓝含量为 $0.9\mu\text{mol/L}\sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 取代。

F. 1. 3. 1. 2 处理后血浆

将含上述血浆的光照袋连同整个病毒灭活器材置于配合使用的医用病毒灭活设备中按确认过的光照参数进行处理。光照处理光源可采用荧光,也可采用经病毒灭活验证有效并对血浆质量及功能无明显不良影响的其他可见光光源。

注:常用光源:荧光,光照强度:30000~38000 lx;光照时间:30min;摆动频率:60次/min;工作温度:2℃~8℃。

光照处理后的血浆,以 10mL/min~15mL/min 的速度全部通过病毒灭活器材中的吸附滤器至贮存血袋,混合均匀即为亚甲蓝残留量检测用的处理后血浆。制备 3 个平行样品。

F. 1. 3. 2 标准血浆制备

同 E. 1. 3. 3。

F. 1. 3. 3 固相提取法制备标准样品及供试样品

取 3cc Waters Oasis 小柱,用 6mL 的甲醇(色谱纯)活化,加入 6mL 的 F. 1. 3. 2 标准血浆,萃取亚甲蓝;用 6mL 体积分数 30% 的甲醇溶液清洗,随后用 6mL 体积分数 1% 的乙酸甲醇溶液洗脱,将洗脱液在 3500r/min 下离心 5min,取上清液作为标准样品。

用处理后血浆同法制备供试样品,其中洗脱用 2mL 体积分数 1% 的乙酸甲醇溶液。

F. 1. 3. 4 分光光度计比色测定

以体积分数 1% 的乙酸甲醇溶液为空白,分别测定标准样品和供试样品在 653nm 处的吸光度。

F.1.3.5 结果计算

取3个平行样品吸光度的平均值,按式(F.1)计算处理后血浆中亚甲蓝含量(MCCh):

$$\text{MCCh}(\mu\text{mol/L}) = A_1 C / 3A_0 \quad \text{..... (F.1)}$$

式中:

A_1 ——供试样品吸光度;

A_0 ——标准样品吸光度;

C ——标准样品亚甲蓝浓度,单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$)。

按式(F.2)计算亚甲蓝残留量(RA):

$$\text{RA} = \frac{\text{MCCh}}{\text{MCCq}} \times 100\% \quad \text{..... (F.2)}$$

式中:

RA——亚甲蓝残留量,%;

MCCq——处理前血浆亚甲蓝含量,单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$);

MCCh——处理后血浆亚甲蓝含量,单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$)。

F.2 方法二:羟乙基淀粉介质法

F.2.1 方法提要

羟乙基淀粉介质法测定亚甲蓝残留量是以羟乙基淀粉溶液代替血浆,测定含 $0.9\mu\text{mol/L} \sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 亚甲蓝的羟乙基淀粉溶液经光照处理、吸附滤器吸附后亚甲蓝含量,并与光照处理前羟乙基淀粉溶液中亚甲蓝含量作比较,羟乙基淀粉介质法是以模拟的方法评价病毒灭活器材吸附亚甲蓝的效果。

羟乙基淀粉溶液不存在血浆蛋白、脂肪和其他杂质的干扰问题,因此不需要采用固相提取—分光光度法,可以直接以分光光度计比色测定羟乙基淀粉溶液中的亚甲蓝浓度,从而推算出血浆中的亚甲蓝残留量。

F.2.2 试验仪器、试剂

同E.2.2。

F.2.3 操作步骤

F.2.3.1 供试样品制备

注:测亚甲蓝残留量用同套病毒灭活器材处理前和处理后羟乙基淀粉中的亚甲蓝含量计算。

F.2.3.1.1 处理前羟乙基淀粉溶液

供试验用病毒灭活器材亚甲蓝残留量的处理前羟乙基淀粉溶液可以直接取用E.2.3.1光照袋内的羟乙基淀粉溶液,当此溶液亚甲蓝含量经亚甲蓝释放量检测后符合 $0.9\mu\text{mol/L} \sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 时。可用原套病毒灭活器材按照F.2.3.1.2制备处理后羟乙基淀粉溶液。

当上述溶液内亚甲蓝含量不符合 $0.9\mu\text{mol/L} \sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 时,可用亚甲蓝对照品以羟乙基淀粉溶液配成亚甲蓝含量为 $0.9\mu\text{mol/L} \sim 1.3\mu\text{mol/L}$ 取代。

F.2.3.1.2 处理后羟乙基淀粉溶液

按F.1.3.1.2步骤,以羟乙基淀粉溶液替代血浆同法制备,贮存血袋内液体即为亚甲蓝残留量检测用处理后羟乙基淀粉溶液供试样品。制备3个平行样品。

F.2.3.2 标准曲线样品制备

精密量取亚甲蓝标准浓缩储备液(E.1.3.2),用羟乙基淀粉溶液稀释,配成浓度为(0.50、0.25、0.15、0.10、0.075) $\mu\text{mol/L}$ 作为亚甲蓝残留量的标准曲线样品。

F.2.3.3 分光光度计比色测定

以羟乙基淀粉溶液为空白,分别测定标准曲线样品和供试样品在661nm处的吸光度。

F. 2. 3. 4 结果计算

取 3 个平行样品吸光度的平均值,由标准曲线计算出供试样品亚甲蓝含量(MCC),按式(F. 3)计算:

$$\text{MCCh}(\mu\text{mol/L}) = \text{MCC} \times R \quad \dots\dots\dots (\text{F. 3})$$

式中:

MCCh——处理后羟乙基淀粉溶液中亚甲蓝含量,单位为微摩尔每升($\mu\text{mol/L}$);

R——残留量测定中羟乙基淀粉法与血浆法的相关系数。

制造商应验证出羟乙基淀粉介质法和血浆介质法测定亚甲蓝残留量的对应关系,并得出两种方法之间的相关系数。

按式(F. 2)计算亚甲蓝残留量(RA)。

注:由于羟乙基淀粉溶液和血浆属不同介质,其通过吸附滤器时的流动性是有区别的,且流动性还受不同制造商的病毒灭活器材吸附滤器的构造、材质的影响,加上检测样品中亚甲蓝含量等诸多因素的存在,使得羟乙基淀粉介质法检测出的亚甲蓝残留量与血浆介质法有一定的偏离。

附录 G

(规范性附录)

血浆总蛋白回收率测定方法(双缩脲法)

G.1 方法提要

血浆中含有大量蛋白,这些蛋白分子中有许多肽键($-\text{CONH}-$)。凡分子中含有两个甲酰胺基的化合物都能与碱性铜溶液作用,形成紫色复合物,这一反应称双缩脲反应。蛋白质分子能起此反应,而且各种血浆蛋白显色程度基本相同。双缩脲反应可作为血浆蛋白总量测定的理想方法,从测定的吸光度值计算出蛋白质含量。

血浆在病毒灭活处理过程中,其蛋白可能会被吸附等。本试验是通过测定血浆经病毒灭活器材处理前、后总蛋白含量变化来评价病毒灭活器材对血浆蛋白的影响。

G.2 试验仪器、试剂

G.2.1 试验仪器

恒温水浴槽、分光光度计。

G.2.2 试剂

G.2.2.1 蛋白标准液

收集混合血浆,用凯氏定氮法测定其蛋白含量,作为蛋白标准液;亦可用市售标准蛋白作为蛋白标准液。

G.2.2.2 6mol/L 氢氧化钠溶液

称取 240g 氢氧化钠溶于约 800mL 新鲜制备的蒸馏水或刚煮沸冷却的去离子水中,稀释至 1L,置聚乙烯瓶内保存。

G.2.2.3 双缩脲试剂

称取未风化没有丢失结晶水的五水硫酸铜 3g,溶于 500mL 新鲜制备的蒸馏水或刚煮沸冷却的去离子水中,加四水酒石酸钾钠 9g、碘化钾 5g,待完全溶解后,加入 6mol/L 氢氧化钠 100mL,并用蒸馏水稀释至 1L,置聚乙烯瓶内保存。

G.3 操作步骤

注:血浆总蛋白回收率测定用同套病毒灭活器材处理前和处理后血浆总蛋白含量进行计算。

G.3.1 供试血浆制备

G.3.1.1 处理前血浆制备:取附录 E 亚甲蓝释放量检测 E.1.3.1 中空血袋内血浆,作为处理前血浆。制备 3 个平行样品。

G.3.1.2 处理后血浆制备:取附录 F 亚甲蓝残留量检测 F.1.3.1.2 中贮存血袋内血浆,作为处理后血浆。制备 3 个平行样品。

G.3.2 测定

取 10mL 试管四支,分别标明“处理前样品测定管”、“处理后样品测定管”、“标准测定管”、“空白对照管”,各管准确加入双缩脲试剂 5.0mL。然后在“处理前样品测定管”中加入 0.1mL 处理前血浆,“处理后样品测定管”中加入处理后的血浆 0.1mL,“标准测定管”中加入 0.1mL 蛋白标准液,“空白对照管”中加入 0.1mL 新鲜制备的蒸馏水或刚煮沸冷却的去离子水。

将上述四支试管各自混匀,置 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴中 10min 后取出,以空白对照管调零,测量在波长

540nm 处各管溶液内的吸光度。

G. 3. 3 结果计算

G. 3. 3. 1 按式(G. 1)计算处理前血浆总蛋白含量(P_q):

$$P_q = \frac{A_q}{A_s} \times C_s \quad \dots\dots\dots (G. 1)$$

式中:

P_q ——处理前血浆总蛋白含量,单位为克每升(g/L);

A_q ——处理前样品测定管吸光度;

A_s ——标准管吸光度;

C_s ——蛋白标准液浓度,单位为克每升(g/L)。

G. 3. 3. 2 按式(G. 2)计算处理后血浆总蛋白含量(P_h):

$$P_h = \frac{A_h}{A_s} \times C_s \quad \dots\dots\dots (G. 2)$$

式中:

P_h ——处理后血浆总蛋白含量,单位为克每升(g/L);

A_h ——处理后样品测定管吸光度;

A_s ——标准管吸光度;

C_s ——蛋白标准液浓度,单位为克每升(g/L)。

G. 3. 3. 3 按式(G. 3)计算血浆总蛋白回收率(R):

$$R = \frac{P_h}{P_q} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (G. 3)$$

式中:

R ——血浆总蛋白回收率, %

P_h ——处理后血浆总蛋白含量,单位为克每升(g/L);

P_q ——处理前血浆总蛋白含量,单位为克每升(g/L)。

附录 H

(规范性附录)

FⅧ:C 回收率测定方法

H.1 方法提要

按照人凝血因子 FⅧ:C 效价测定法(一期法)测定——将血浆病毒灭活处理前和处理后血浆分别与缺乏人凝血因子Ⅷ的基质血浆混合,做白陶土部分凝血活酶时间测定;再将病毒灭活前后的血浆的测定结果与含人凝血因子Ⅷ标准血浆相比较,计算病毒灭活血浆前后所含人凝血因子Ⅷ的含量。并计算病毒灭活前后血浆 FⅧ:C 回收率。以评价病毒灭活器材对血浆中的凝血因子影响。

H.2 试验仪器、试剂

H.2.1 试验仪器:恒温水浴槽。

H.2.2 试剂

H.2.2.1 3.8%枸橼酸钠溶液:取无水枸橼酸钠 9.5g,加水至 250mL。

H.2.2.2 咪唑缓冲液(pH7.3):取咪唑 0.68g、氯化钠 1.17g 溶于 100mL 蒸馏水中,加 0.1mol/L 盐酸溶液 42.2mL,再加蒸馏水至 200mL。

H.2.2.3 稀释液:取 1 体积的 3.8%枸橼酸钠溶液加入 5 体积的咪唑缓冲液(pH 7.3)混合,加适量的人血白蛋白至终浓度为 1%。

H.2.2.4 脑磷脂悬液:用兔脑制成的脑磷脂悬液储备液,使用前用质量浓度 9g/L 的氯化钠溶液作 1:100 稀释成脑磷脂悬液。

H.2.2.5 5g/L 白陶土生理盐水悬液:取白陶土 5g,加质量浓度 9g/L 的氯化钠溶液至 100mL 并混匀。

注:可以用市售白陶土型的激活的部分凝血活酶(APTT)试剂代替 H.2.2.4 和 H.2.2.5。

H.2.2.6 0.05mol/L 氯化钙溶液:取二水氯化钙 147g,加水溶解并稀释至 1000mL,成 1mol/L 氯化钙储备液,临用前用水稀释 20 倍,配置成 0.05mol/L 氯化钙溶液。

H.2.2.7 人凝血因子Ⅷ缺乏的血浆:为人凝血因子Ⅷ含量低于 1%的人血浆或人工基质血浆。

H.2.2.8 人凝血因子Ⅷ标准溶液:用人凝血因子Ⅷ缺乏的血浆将人凝血因子Ⅷ国家标准品或用国家标准品标化的工作标准品稀释成 FⅧ:C 为 1IU/mL,再用稀释液进行 10 倍、20 倍、40 倍、80 倍和 160 倍稀释,置冰浴待用。

H.2.2.9 供试品溶液的制备

注:测 FⅧ:C 回收率用同套病毒灭活器材处理前和处理后血浆中 FⅧ:C 计算。

H.2.2.9.1 病毒灭活血浆处理前供试品溶液:取 FⅧ:C 不小于 0.7 IU/mL 的新鲜血浆或新鲜冰冻血浆[用前(37±1)℃水浴融化],作为病毒灭活血浆处理前供试血浆。产品标记为 01 的用 100mL 血浆,产品标记为 02 的用 200mL 血浆,产品标记为 03 的用 150mL 血浆。

该血浆用人凝血因子Ⅷ缺乏的血浆稀释成 FⅧ:C 约为 1IU/mL(供试血浆的 FⅧ:C 小于 1IU/mL 除外),再用稀释液进行 10 倍、20 倍、40 倍或 80 倍稀释作为供试品溶液,置冰浴待用。

H.2.2.9.2 病毒灭活血浆处理后供试品溶液:按制造商使用说明中的操作方法对 H.2.2.9.1 的病毒灭活血浆处理前供试血浆进行处理,贮血袋内的血浆为病毒灭活血浆处理后供试血浆。

该血浆用人凝血因子Ⅷ缺乏的血浆稀释成 FⅧ:C 约为 1IU/mL(供试血浆的 FⅧ:C 小于 1IU/mL 除外),再用稀释液进行 10 倍、20 倍、40 倍或 80 倍稀释作为供试品溶液,置冰浴待用。

注:因凝血因子Ⅷ易变不稳定,标准品和供试品稀释后宜立即测定。与标准品、供试品和血浆直接接触的器皿如试

管等宜采用塑料制品或硅化玻璃制品。

H.3 操作步骤

H.3.1 供试品测试

取质量浓度 5g/L 白陶土生理盐水悬液 0.1mL 和脑磷脂悬液 0.1mL(也可用激活的部分凝血活酶(APTT)试剂 0.1mL 代替),置(37±1)℃水浴保温 4min;加入凝血因子Ⅲ缺乏的血浆 0.1mL、供试品溶液 0.1mL,混匀,置(37±1)℃水浴保温 5min;加入已预热至(37±1)℃的 0.05mol/L 氯化钙溶液 0.1mL,记录凝固时间(s)。供试品的每个稀释度平行测定 2 管,两管之差不得超过均值的 10%,否则应重测。

H.3.2 标准品测试

用不同稀释度的人凝血因子Ⅲ标准溶液 0.1mL 替代供试品溶液,同 H.3.1 操作。

H.3.3 标准曲线绘制

将标准品不同稀释度所含人凝血因子Ⅲ含量(IU/mL)分别取对数,再将其相应的凝固时间(s)分别取对数进行直线回归处理,求得直线回归方程 其 r 值应不低于 0.98。直线回归方程见式(H.1):

$$\lg Y = b \lg X + a \quad \text{..... (H. 1)}$$

式中:

Y ——相应的凝固时间,单位为秒(s);

X ——人凝血因子Ⅲ含量(FⅢ:C),单位为国际单位每毫升(IU/mL)。

H.3.4 结果计算

H.3.4.1 病毒灭活血浆处理前血浆 FⅢ:C(IU/mL)

将病毒灭活血浆处理前供试品溶液的凝固时间(s)代入直线回归方程求得 FⅢ:C(IU/mL),再乘以稀释度即为病毒灭活血浆处理前血浆 FⅢ:C(一般取 2 个稀释度)。

H.3.4.2 病毒灭活血浆处理后血浆 FⅢ:C(IU/mL)

将病毒灭活血浆处理后供试品溶液的凝固时间(s)代入直线回归方程求得 FⅢ:C(IU/mL),再乘以稀释度即为病毒灭活血浆处理后血浆 FⅢ:C(一般取 2 个稀释度)。

H.3.4.3 FⅢ:C 回收率(R)

按式(H.2)计算:

$$R = \frac{C_h}{C_q} \times 100\% \quad \text{..... (H. 2)}$$

式中:

R ——FⅢ:C 回收率, %

C_h ——处理后血浆 FⅢ:C,单位为国际单位每毫升(IU/mL);

C_q ——处理前血浆 FⅢ:C,单位为国际单位每毫升(IU/mL)。

参 考 文 献

- [1] GB/T 16886. 4—2003 医疗器械生物学评价 第 4 部分:与血液相互作用试验选择
 - [2] GB/T 16886. 5—2003 医疗器械生物学评价 第 5 部分:体外细胞毒性试验
 - [3] GB/T 16886. 10—2005 医疗器械生物学评价 第 10 部分:刺激与迟发型超敏反应试验
 - [4] GB/T 16886. 11—1997 医疗器械生物学评价 第 11 部分:全身毒性试验
 - [5] 国药监注[2002]160 号《血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则》
 - [6] GB 15593—1995 输血(液)器具用软聚氯乙烯塑料
 - [7] GB 18457—2001 制造医疗器械用不锈钢针管
 - [8] YY/T 0114 医用输液、输血、注射器用聚乙烯专用料
 - [9] YY/T 0242 医用输液、输血、注射器用聚丙烯专用料
-

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
一次性使用血液及血液成分病毒灭活器材
第 1 部分：亚甲蓝病毒灭活器材
YY 0765.1—2009

*

中国医药科技出版社出版发行
北京市海淀区文慧园北路甲 22 号
邮政编码：100082
网址 www.cmstp.com
电话：发行：010—62227427 邮购：010—62236938
三河市腾飞印务有限公司印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 46 千字
2011 年 5 月第一版 2011 年 5 月第一次印刷

*

书号：145067·39 定价 20.00 元

如有印装差错 由本社发行部调换
版权专有 侵权必究
举报电话：(010)62214756