

疫苗生产中纯化水的质量控制分析

徐杰

成都生物制品研究有限责任公司 四川 成都 610000

【摘要】目的：本文通过对疫苗生产车间纯化水的制备和循环制定规范的质量控制措施，为生产出高质量的制药纯化水提供依据。**方法：**通过对水源的控制、设备管路及储罐设计的控制、制水系统消毒的控制等工艺控制方法，并对纯化水水样电导率、总有机碳（TOC）、微生物限度3项关键质量指标进行趋势分析。**结果：**通过对纯化水的制备工艺制定相应的质量控制措施，并对2017至2018年度纯化水取样的质量检测结果显示25℃电导率均 $\leq 5.1\mu\text{s}/\text{cm}$ ，TOC远低于药典标准500 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，纯化水微生物限度检查未检出细菌、霉菌和酵母菌，各项指标均符合《中华人民共和国药典》现行版标准^[1]。**结论：**通过以上控制方法能够有效控制纯化水的质量标准纯化水质量远高于药典规定，因此可以持续有效地生产符合药典要求的纯化水，为疫苗的安全性和有效性提供保障。

【关键词】：纯化水；电导率；总有机碳；微生物限度；趋势分析

引言

制药用纯化水是制药企业主要原辅料之一，水质的好坏会对产品质量造成安全隐患，如果纯化水的质量得不到保障，达不到基本要求，就会产生制药污染，造成药品安全问题。各国药典中对纯化水的质量标准、用途进行了明确的定义和要求，世界各国及国际组织的药品生产质量管理规范（GMP）均把纯化水系统作为生物制药的关键系统，并做出了严格规定。中国《药品生产质量管理规范》现行版明确规定“应当对制药用水及原水的水质进行定期监测，并有相应记录”^[2]。各制药企业在加强对纯化水日常检测的同时，也越来越重视对工艺制水系统的质量控制，并对纯化水的主要质量指标进行趋势分析，保障工艺用水系统能够持续稳定地生产出符合质量标准的纯化水^[3]。

1 仪器

①购自深圳市宏森环保科技有限公司的二级反渗透纯化水制备系统；②购自奥星制药设备有限公司的纯化水分配系统、注射用水分配系统、多效蒸馏水机；③1300A2型生物安全柜（ThermoFisher）；④Sevenexcellence型电导率仪（MettlerToledo）；⑤购自美国GE公司的Sievers900型总有机碳（TOC）分析仪；⑥购自北京同德创业科技有限公司的TAL-40D型试管恒温仪；⑦购自无锡建仪实验器材有限公司GNP-9080型隔水式恒温培养箱；⑧购自凡帝朗科技有限公司FDLD-050型恒温水浴锅；⑨LS-0610型烘箱（FisherLabserv）；⑩pH700型酸度计（Eutech）。

2 方法与结果

2.1 纯化水水源的控制

控制制药用水中微生物的滋生，首先控制源头——饮用

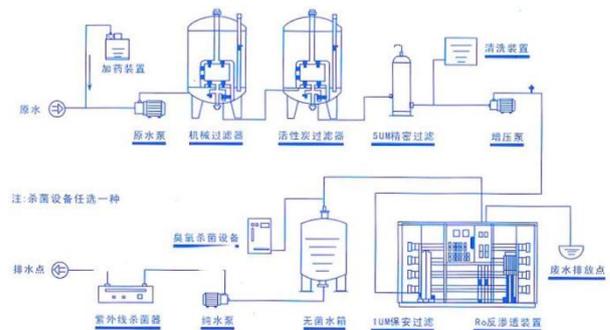
水的质量，优质的饮用水是生产优质制药用水的前提因素。应对制药用水及原水的水质进行定期监测并有相应的记录。

我国饮用水大多通过混凝、沉淀、澄清、气浮、过滤、消毒而制得。影响饮用水的因素一是饮用水随季节的变化致使水质有一定的变化，例如夏季饮用水易受污染。二是饮用水因地域不同水中的杂质含量也不相同，南方水质中微生物含量比较多，北方的水质中离子杂质比较多（水质比较硬）。当水质不好时，用氯处理水，用氯量会加大，而经氯处理的水也会产生有毒物质，如三氯甲烷等，若要免其干扰应考虑选择较好的季节温度，好的水质来制造制药用水^[4]。

2.2 制水设备的微生物控制

分包装室纯化水机由多介质过滤器，软化过滤器、活性炭过滤器、RO反渗透膜、EDI电离子模块组成，该套设备可实现10吨/时的产水能力，现对分包装室采取的微生物控制措施进行说明：

纯化水机流程图，见下图：



2.2.1 原水箱清洗

原水箱作为缓存装置，需要定期进行清洗，1次/月，多

介质过滤器建议每运行 24 小时，反洗一次，反洗时间不少于 30 分钟，可去除附着的淤泥等杂质。软化过滤器通过定期的再生，去除钙镁离子，为减少反渗透膜的工作负载，避免阻塞。

2.2.2 活性炭消毒

活性炭对有机物吸附最为有效，有很强的吸附能力，并能保护离子交换树脂和反渗透装置使其免于提前失效。但在此过程中一旦把自由氯去掉，水中不再有杀菌剂，细菌就会在炭滤器中大量繁殖，而活性炭也是细菌滋生的地方。因此当纯化水出现微生物限度偏高或超标的问题时，需要及时注意活性炭滤器中是否存在有细菌的影响。因此建议每月对活性炭定期使用巴氏消毒方式消毒，现分包装室设定为每月进行消毒 1 次。此外，活性炭在进行定期更换时要防止带来的外源性污染，更换后应及时进行冲洗，并进行巴氏消毒，及时有效地控制菌落生长。

2.2.3 保安过滤器

保安过滤器的作用是截留原水带来的大于 $5\ \mu\text{m}$ 的颗粒，防止其进入反渗透系统。这种颗粒经高压泵加速后可能击穿反渗透膜组件，造成脱盐率下降，同时可能划伤高压泵的叶轮。过滤器中的滤芯为可更换卡式折叠聚丙烯滤芯，当过滤器进出口压差大于 $0.5\sim 1\text{bar}$ 时，应当及时更换滤芯，或者定期三个月更换一次滤芯。

2.2.4 RO 单元（反渗透装置）清洗、消毒

预处理中前处理不合格或水的成分改变能引起反渗透膜表面聚集大量的胶体，细菌和有机水垢，这时就要用适当的方法进行清洗、消毒，反渗透装置必须定期消毒防止细菌大量繁殖，若长时间细菌繁殖导致生物膜的形成，会严重影响水的质量，现使用的消毒方式为巴氏消毒或 30% 双氧水定期消毒，而清洗反渗透膜的主要消毒剂为 2% 柠檬酸，以上两种方法可有效保障反渗透膜正常运行。

2.2.5 EDI 装置（电离子模块）清洗、消毒

由于 EDI 装置很少积存残留水，本身不具备消毒能力，可在其后增加紫外线杀菌装置或定期进行巴氏消毒，以保证进入纯化水储罐的水中微生物含量在控制范围内。正常情况下，RO 单元的出水可保证微生物达到符合标准的水质，若微生物出现偏高或超限情况，应及时关注活性炭单元和 RO 单元运行情况，及时采取有效的消毒方法进行控制，防止纯化水循环系统被污染。

2.2.6 纯化水制备系统的运行方式

制备系统应该始终处于循环状态，水不流动时有利于微生物繁殖并可能形成生物膜，这种情况在配水管路尤为多见。

分包装室在车间无生产用水时，切勿长时间停止运行，应每天至少保证纯化水机运行不少于 120 分钟，保证管路不存死水。

若有生产需要用水时，纯化水机程序可设定循环启动和循环结束两种模式，在储罐无需补水时运行循环模式，浪费原水大约 $5\sim 7\ \text{t/h}$ 。所以为节约能源考虑，不建议制水设备 24h 的循环模式，但每天应不少于 120 分钟的运行或循环模式，可保证反渗透膜，EDI 管路中无死水的情况，有效防止微生物的滋生^[5]。

2.3 其他微生物控制措施

2.3.1 消毒

应对系统进行定期消毒，这是日常管理中最有效的微生物控制手段，消毒方式有许多种，如巴氏消毒、化学消毒、臭氧消毒和紫外消毒等。

巴氏消毒是指将液体加热到一定温度并持续一段时间，以杀死可能导致疾病、变质或不需要的发酵微生物的过程。常采用 $80\sim 85\text{°C}$ 的热水循环 1-2h 来实现该系统的巴氏消毒。温度过低达不到消毒效果，温度过高容易使部件老化，不锈钢内表面产生红锈，不利于微生物的控制^[6]。

2.3.2 日常管理

企业应建立纯化水系统的取样检测计划，并持续进行；取样频率可以与长期性能确认的一致；水质出现异常及时进行调查和处理，至少每年一次对纯化水性能进行评估，可根据历史数据对性能确认中制定的警戒限和行动限进行一定调整。

2.4 取样方法

在车间正常生产和水机正常运行情况下，操作人员按取样计划负责取样。取样前用 75% 乙醇棉球擦拭取样口内外壁，打开取样阀排水至少 3min，灭菌玻璃瓶取水前需用水样进行润洗至少 3 次。每个取水点取 3 瓶平行样品，每份取样量不少于 300mL，取样结束立即盖好瓶盖。用于 TOC 检测的水样在取样时应尽量取满，以减少水面上部空气对水样的影响。另外，对细菌内毒素检查用取样瓶应提前采取高温措施以去除热原。

2.5 结果

选用成都生物制品研究所有限责任公司乙型肝炎减毒活疫苗生产车间水站纯化水机出水口和系统回水口两个关键点位作为监测点。对2017年12月至2018年12月每周三批次取样送检，总共169批次检测数据的电导率、总有机碳(TOC)、微生物限度三个关键质量指标结果趋势图如下。

TOC 趋势图

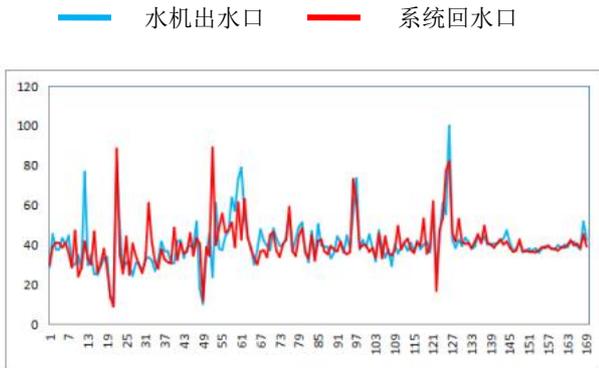


图 1

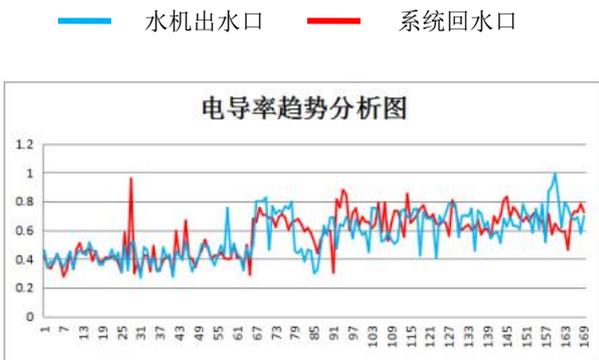


图 2



图 3

通过以上2017年12月至2018年12月169批次水样送检结果表明：纯化水检测结果大体趋于稳定，个别时间段出现的偏高，可能有认为取样、送检等因素造成，并非水质本身原因，且所有检测结果均远低于药典的规定，并通过以上数据制定企业纯化水的警戒限与行动限更加全面的控制纯化水的质量如表1所示。

表 1 纯化水警戒限与行动限值的确定

| 项目 | 平均值 (AV) | 标准差 (SD) | AV±2SD | AV±3SD | 法规标准 | 警戒限 | 行动限 |
|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|------|------|------|
| 电导率 | 0.4099 85 | 0.0781 749 | 0.5663 3 | 0.6445 09 | 5.1 | 0.80 | 1.00 |
| TOC 值 | 41.075 318 | 20.647 940 | 82.371 198 | 103.01 913 | 500 | 100 | 150 |
| 微生物 | 14.854 046 | 13.261 385 | 41.683 716 | 54.638 201 | 100 | 40 | 60 |

3 讨论

在疫苗生产中，需要大量的纯化水，在对其进行制备、贮存与使用的过程中，均可能会出现微生物繁殖的不良情况，而微生物或其代谢产物将会对药品质量产生严重的不良影响。对此，需要采取有效的措施对工艺用水的质量加强控制。自2005年药典增加微生物限度检查项目后，2010年又增加了电导率、TOC项目，2020年修订后，相关质量标准才有了进一步的修订与完善。

就本文研究的结果显示，纯化水中微生物非常少，且电导率平均值 $<1.20\mu\text{s/cm}$ ，相较于药典规定的 $5.1\mu\text{s/cm}$ 也低很多；其TOC平均值 $<10\text{ppb}$ ，同样小于药典规定的 500ppb 。综合来说，纯化水各指标都符合我国药典的要求。由此可见，纯化水采用对水源的控制、设备管路设计的控制、制水系统消毒的控制、制备系统运行方式控制等方法能够有效地控制制药用水中微生物的滋生与繁殖，并能够持续稳定地生产出合格的制药用水。这种方法是科学的、可行的，并能够全面推广。

综上所述，在生产中需要对纯化水的电导率、TOC以及细菌内毒素、微生物总数等指标进行测定，并定期检查、更新、维护相关设备，以便及时了解水质情况。综合数据分析也可以发现，构建切合实际的电导率、TOC、微生物等指标警戒、纠偏限值，将会更加全面地控制纯化水的质量，并确保水系统的有效运行，避免因水质问题引发产品不合格的情况出现。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.《中华人民共和国药典》现行版(二部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:附录 106-117.
- [2] 李志龙,赵虹,孙俊峰,王殿钧,李建军,单卫平,张鑫慧.制药用水系统微生物控制分析[J].中国卫生工程学,2014,04:324-326.
- [3] 何国强,易军,张功臣.制药用水系统[M].北京:化学工业出版社,2012.
- [4] Fabricio R,Silva M D,Diego Antonio De Moura Fonsêca,et al.System of Sensors and Actuators for the Production of Water Used in the Manufacture of Medicines[J].Sensors,2019,19(20):4488-4488.
- [5] 贺立中.美国药典 24 版中有关制药用水质量及检测方法的新规定[J].国外医药(合成药 生化药 制剂分册),2020(06):373-376.
- [6] 李志龙,赵虹:制药用水系统微生物控制分析技术与方法[A],中国卫生工程学,技术与方法,2013.