

药品清洁残留分析方法有关概念及影响因素的探讨

柴发永¹, 柏建学¹, 刁兴彬¹, 朱海升² (1. 山东省食品药品审评查验中心, 济南 250014; 2. 山东省药品监督管理局区域检查第三分局, 淄博 255000)

摘要 目的: 以回收率为切入点, 研究药品清洁验证中清洁残留分析方法的有关概念和做法, 为药品生产企业在清洁验证时对残留物分析方法学的研究提供参考。方法: 通过查阅有关文献, 比较归纳药品清洁残留物分析方法的有关概念和做法, 研究影响分析方法回收率的各种因素, 在概念解读和对文献分析的基础上提出针对性建议。结果: 对在中国知网检索到的2015-2020年的关于清洁验证残留物分析方法的21篇文献进行了分类, 分别对检验方法回收率、取样方法回收率以及同时对二者进行研究的文献进行了分析, 并着重对取样方法回收率研究中擦拭取样操作的过程及重点环节进行了分析, 进一步分析讨论了检验方法回收率和取样方法回收率2个概念。结论: 在对清洁验证残留物分析方法的回收率进行研究时, 应同时考虑对清洁残留的取样操作和对残留物溶液的分析, 建议以分析方法回收率的概念进行方法学考察。在交叉污染风险较大的情况下, 回收率的研究是必要的; 但在交叉污染风险相对较小时, 回收率的研究意义不大。微生物残留的回收率研究, 应结合产品和设备情形根据风险评估来决定验证的深度和广度。

关键词: 清洁验证; 回收率; 检验方法; 取样方法; 分析方法; 擦拭取样

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2021)07-0814-08

doi:10.16153/j.1002-7777.2021.07.013

Discussion on the Concepts and Influencing Factors of Recovery Rate of Cleaning Residue Analysis Method for Pharmaceuticals

Chai Fayong¹, Bai Jianxue¹, Diao Xingbin¹, Zhu Haisheng² (1. Shandong Center for Food and Drug Evaluation & Inspection, Ji'nan 250014, China; 2. The 3rd Regional Inspection Bureau of Shandong Medical Products Administration, Zibo 255000, China)

Abstract Objective: Taking the recovery rate as the breakthrough point, the related concepts and practices of cleaning residue analysis method in drug cleaning verification were studied, which could provide a reference for manufacturers to carry out the research on residue analysis methodology in drug cleaning verification. **Methods:** By referring to relevant literature, the concepts and practices of analytical methods for cleaning residues of drugs were compared and summarized, various factors affecting the recovery rate of analytical methods were studied, and targeted suggestions on the basis of concept interpretation and literature analysis were put forward. **Results:** 21 papers on the analysis method of clean verification residues retrieved by CNKI from 2015 to 2020 were classified. The recovery rate of inspection method, and sampling method and the literature on the study of both methods were analyzed respectively. The process and key links of swab sampling operation in the recovery rate of sampling method was analyzed, and two concepts of recovery rate of inspection method and analysis method

were further analyzed and discussed. **Conclusions:** In the study of the recovery rate of residue analysis method for cleaning validation, the sampling operation of cleaning residue and the analysis of residue solution should be considered simultaneously. It is suggested that the concept of analytical method recovery rate should be used for methodological investigation. In the case of high risk of cross contamination, the study of recovery rate was necessary. However, when the cross-contamination risk was relatively small, the research on recovery rate was of little significance. In the study of microbial residue recovery rate, the depth and breadth of verification should be determined according to the risk assessment of products and equipment.

Keywords: cleaning verification; recovery rate; inspection method; sampling method; analysis method; swab sampling

对于大多数药厂而言,共线生产的情况比较普遍,因此,《药品生产质量管理规范》(Good Manufacturing Practice, GMP)规定药品生产管理和质量控制的基本要求是最大限度地降低药品生产过程中污染、交叉污染以及混淆、差错等的风险^[1]。生产后对设备的清洁作为防止污染和交叉污染的有效措施,需要用清洁验证来证实清洁方法的有效性。清洁验证历来是药品生产检查的重点,从近年的国际国内检查来看,也发现了不少问题,许多企业在清洁残留限度标准、部分设备未开展清洁验证、清洁方法和取样方法与回收率等多个方面存在不同程度的问题^[2]。本文以清洁残留分析方法回收率的研究为切入点,查阅相关文献,对比归纳残留物分析方法的有关概念和做法,研究影响分析方法回收率的各种因素。

1 相关概念

对清洁后残留物分析方法的方法学考察,特别是对回收率的考察,关系到清洁是否彻底、清洁方法是否有效、清洁验证是否成功的关键。本文结合有关专著、文献的描述,GMP及有关附录中的规定,对涉及清洁验证分析方法的3组概念分别进行分析。其中2个回收率的概念关系本文主旨观点,笔者通过对法规描述的分析提出自己的观点——将2个概念“合二为一”统一为“分析方法回收率”。笔者认为,之所以有2个不同的回收率概念,是因为对残留限度与可接受标准2个概念混淆不清,所以本文对这2个概念进行了分析,为提出统一的分析方法回收率概念提供支持。第3组概念“清洁对象与清洁参照物”是分析方法的标的物,关系到分析方法的准确性即回收率研究的必要性,笔者结合有关文献的描述对此一并进行了分析比较。

1.1 取样方法回收率与检验方法回收率

清洁验证中有2个回收率的概念,一为检验方法回收率,一为取样方法回收率。《药品生产验证指南》^[3]中就有“方法的回收率可与取样的回收率结合进行”“取样回收率和检验方法回收率在内的综合回收率一般不低于50%”的描述。GMP^[1]中对回收率的概念也有明确的要求,例如第一百四十三条“清洁验证应当综合考虑设备使用情况、所使用的清洁剂和消毒剂、取样方法和位置以及相应的回收率、残留物的性质和限度、残留物检验方法的灵敏度等因素”;GMP原料药附录^[4]第二十四条“应当确定分析方法可达到的回收率。”(原料药附录中的分析方法即检验方法。本文将分析方法与检验方法区分开。详见下文)。

对检验方法来说,回收率表示测定的结果与真实值或参比值接近的程度,即准确度^[5];同理,对取样方法来说,回收率就是取样方法“取下来”的量与实际添加量接近的程度。对清洁验证时清洁残留的分析,一般认为检验方法回收率要先于取样方法回收率,因为取下来的量的多少要用一个可靠的检验方法来检测。检验方法通过验证后,方可进一步确定取样方法。得到取样方法回收率后,以残留限度与取样方法回收率的乘积作为可接受标准(在GMP^[1]中,未明确残留限度与可接受标准的具体含义。本文将这两个概念区分开。详见下文),用来判断当前清洁方法对设备生产后的清洁是否有效。

1.2 残留限度与可接受标准

GMP确认与验证附录^[6]第八章清洁验证中有残留限度和可接受标准2个不同的概念,但未进一步说明。笔者认为残留限度应是经过评估分析计算得出的,清洁后允许残留在设备表面,对下批产品

的生产不会造成安全性影响的最大值(单位面积下);可接受标准是因为取样方法的局限性,即取样方法回收率,在实际取样后用来确定设备是否达到清洁标准的值。残留限度与可接受标准的区别,即上文所述的“残留限度×取样方法回收率=可接受标准”。因此,只有将残留限度和可接受标准区分开来,对取样回收率的研究才有意义;只有将取样方法回收率的结果计算进去,才能反映真实的残留情况^[7]。这也正是单纯研究检验方法回收率不完善的问题所在。

1.3 清洁对象与清洁参照物

GMP原料药附录^[4]中有清洁对象和清洁参照物2个不同的概念,但未进一步说明。笔者认为,清洁对象是几个共线生产品种经过评估分析后,选定的活性或毒性较大的、溶解度较小的、相对更难清洁的产品;而清洁参照物则是清洁的主要对象,是清洁对象中的活性成分。对于原料药来说,清洁对象与清洁参照物在概念上是等价的,均是该原料药;对于制剂,则清洁对象是该制剂品种,而清洁参照物则是该品种所使用的原料药。

在笔者查阅的文献中,绝大多数的研究者在模拟取样时使用清洁参照物为样品。例如王波等^[8]在对复方氯唑沙宗片清洁后的擦拭回收率验证时,将复方中的氯唑沙宗和对乙酰氨基酚都作为清洁参照物,均求得了擦拭回收率(分别是72.9%和93.5%);只有柴振平等^[9]和魏巍等^[10]将清洁对象作为模拟取样时的试验样品。笔者认为,相比于原料药的清洁,制剂中所含的辅料是否影响活性成分的清洁效果,甚至是否影响清洁后擦拭取样的效果,这是值得探讨的。

2 文献分析

通过对在中国知网检索到的2015–2020年的关于清洁验证残留物分析方法的21篇文献进行对比研究,发现主要分为3种情况:一是仅针对检验方法的回收率进行研究,未提及取样方法的回收率,共有2篇^[11–12];二是仅针对取样方法的回收率进行研究,未提及检验方法的回收率,共有14篇^[8–10,13–23];三是对2个回收率同时进行研究,共有5篇^[24–28]。下面对以上3种情况进行具体分析。

2.1 针对检验方法回收率进行的研究

清洁验证检验方法的检测对象是生产后的清洁残留,从供试液浓度来说,相当于药品的杂质

测定。杂质测定分两种情况,即定量分析和限度分析。其中,限度分析在方法验证时不需要对准确度即回收率试验进行考察^[5],但从清洁验证检验方法的研究来看,所有的研究者都是按照定量分析的验证要求来做的,不仅做了回收率试验,连同精密度、线性和范围等指标也一同进行了考察。

在清洁验证回收率的研究中,只针对检验方法回收率进行研究的文献较少,仅有2篇文献。洪丽萍等^[11]用HPLC对非诺贝特缓释片生产清洁后的残留物非诺贝特进行了检验方法回收率研究;文中计算得出非诺贝特的残留限度是 $0.059 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,虽然文中提到模拟取样的面积为 100cm^2 ,但未对取样方法的回收率研究情况进行介绍。蔡亚兰等^[12]用HPLC对硝酸益康唑乳膏生产清洁后的残留物硝酸益康唑进行了检验方法回收率研究;文中计算出硝酸益康唑的残留限度是 $2.248 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,虽然提到擦拭溶剂为乙醇,但同样未开展取样方法回收率的研究,直接设定取样回收率为100%。

上述研究均是将相应生产品种的对照品溶液按照残留限度的要求稀释至相应浓度,再加入到相应浓度级别的对照品溶液中,作为供试品溶液,进行加样回收率试验。虽然参考药典“分析方法验证指导原则”^[5]对检验方法的其他指标一并进行了验证,但由于未对模拟取样过程进行研究或介绍,从清洁验证角度来说,未按GMP要求考虑取样方法的回收率,即清洁验证不充分。

2.2 针对取样方法回收率进行的研究

在整个清洁验证回收率的研究中,只针对取样方法回收率进行研究的文献占2/3。涉及的产品类型有片剂、注射液、栓剂、乳膏剂、原料药及中间体等。检验方法绝大多数是HPLC,少数采用UV^[13–14],还有以pH和电导率为检测指标^[15]。另外,总有机碳(TOC)也在清洁验证中有广泛应用,但因其是一种非专属性检验方法,本文未予讨论。

取样方法回收率受取样的具体方法、取样人员的操作、取样工具的适用性等因素的影响。取样过程实际上是对药签、溶剂的选择,以及对取样人员的操作、残留物转移到药签、样品溶出(萃取)过程的全面考察^[29]。以下主要以擦拭法为例,分析模拟取样的整个过程中各因素对取样方法回收率的影响。

2.2.1 取样的操作方法

取样时绝大多数采用擦拭法,部分研究同时结合了淋洗法^[15-17],也有单独使用淋洗法^[13]的。

采用擦拭法,主要是因为能够对清洁后仍然粘附于设备表面的残留进行直接取样,与淋洗法相比更能反映设备的清洁状态。而淋洗法能够接触到不易直接擦拭的设备内表面,可作为擦拭法的补充方法。笔者认为,具体的取样方法不仅与设备型式有关(例如很长的管道),也与清洁前生产产品的性质、状况以及生产条件等因素有关。以一中间储罐或反应釜为例,清洁前生产的产品状态为液体,生产条件较为温和,如果是立即清洁,则完全可以采用淋洗法取样;反之,对直接接触产品的零部件或模具较多的复杂设备而言,如果生产产品为固体颗粒,甚至是黏性较大的浸膏,则擦拭法是更为可取的取样方法。

2.2.2 模拟取样平面的材质

由于绝大多数的生产设备是不锈钢材质,所以擦拭法使用的材质基本上也是不锈钢的。有研究者对不同的设备材质分别进行了取样方法回收率的研究。贺佩兰^[17]对搪瓷和不锈钢2种材质的平面进行了擦拭和淋洗回收率的研究,发现搪瓷的回收率要高于不锈钢;张振等^[18]则对4种不同材质(包括不锈钢、有机玻璃、钢化玻璃、聚四氟乙烯)平面的擦拭取样方法回收率进行了研究,结果显示有机玻璃最低,不锈钢最高;境外对我国企业的检查也曾提及密封胶圈的材质需要进行取样回收率验证^[2]。因此,清洁验证时要综合考虑产品在生产中接触到的各种材质,特别是容易处于清洁盲点的设备阀门、附属管道和零部件等。

2.2.3 验证溶液的量与试验次数

若选取的各生产设备各取样位置经擦拭后制得供试液中活性成分的量小于可接受标准(不是残留限度),说明使用的清洁方法对设备或设备链是有效的。取样方法回收率试验时,向模拟平面上添加的验证溶液的量应该就是残留限度的量。

实际研究中,验证溶液的量一共有2种方式:一是只有一种数值;二是围绕残留限度有3个不同梯度的量,将残留限度包括在这个梯度范围内(中间梯度即是残留限度)。从2017-2018年的国内检查来看,就有诸如“取样回收率验证溶液浓度不在可接受范围内”^[2]的问题。

如同检验方法回收率试验一样,取样方法回收率也要多次试验。但多数研究者未采用药典检验方法回收率的设计方式。无论验证溶液的量如何设定,取样方法回收率的试验次数和方式多种多样,有的只进行1组试验,试验次数有3^[19]、6^[20]、9^[21]次的;有的设计3组试验,每组有3^[9-10,13,16-18]、6^[22-23]次的。因此,总的试验次数相差较大,从3次到18次都有。但笔者考虑,如果上述2种方式(1×6, 3×3),与药典“分析方法验证指导原则”^[5]中对回收率试验的次数要求是相同的,既可以同一浓度测定6次,也可以3种不同浓度分别测定3次。

2.2.4 具体操作过程(涂布、干燥、擦拭与转溶)

1) 模拟取样面积、验证溶液的体积与涂布方式

所查文献中模拟取样的面积基本分为2种情况,一种是10×10 cm²,一种是5×5 cm²。各研究者没有对此作出说明,笔者认为取样面积应与实际生产设备的体量有关,大型生产设备的取样面积宜取较大值,这样比较有代表性。另外,还与验证溶液的体积有关,如果取样面积大而验证溶液体积小,溶液在整个平面上分布不均匀。

有的文献^[9,18,22-23]中溶液体积很小,仅为0.1 mL,如何精确地将如此少量的溶液均匀地涂布在相对较大的面积上,操作起来相对比较困难。

对于溶液如何在取样平面上均匀地分布,各研究者都没有详细描述,均以一种涂布方法简略而过,有的是“涂”^[10,16,19-20],有的是“滴”^[18,22-23]或“点”^[9],有的是“注”^[21],有的是“倾倒”^[17]。笔者建议可以采取下列方法:以5×5 cm²的取样面积,验证溶液体积1 mL为例,1 mL在常温下约为20滴(每cm²约1滴),可用矩阵点加法,使用定量移液枪逐滴点到平板上,利用液滴的重力和在平面的张力自然摊开。

2) 验证溶液的干燥方式

溶液干燥后才能取样。干燥方式有自然晾(风/挥)干^[9,14,18,21,23]、电风吹干^[20,22]和烘干^[19]。笔者认为,采用何种干燥方式应与实际清洁后设备的干燥方式有关。若设备清洁后没有干燥操作的,可选自然晾干;若采用压缩空气吹干的,可选电风吹干(注意风速);加热或利用余热干燥的,可用烘干。此外,干燥方式与取样方法回收率也有一定关系,不同程度的干燥方式使残留物质与设备表面产生不同的接合力,残留物质在清洁后仍然粘附

于设备表面,如果擦拭力度不够,取样回收率将受影响。这从2015~2018年境外检查和监管机构对我国企业发现的问题——“擦拭测定中样品干燥条件与实际工艺中干燥条件的一致性”^[2]的描述上也可以看出。

3) 擦拭工具、擦拭溶剂和擦拭的时机和方式

擦拭工具多是棉签,少数采用了脱脂棉^[22-23]或无纺棉^[10]。大多数使用1支棉签即擦拭1块取样平面,有的则使用了2支棉签或棉团^[14,18-19,22-23],甚至3支棉签^[17]。使用棉签的数量与平面面积、验证溶液的量以及棉签的吸附量等有关。

擦拭的溶剂多种多样,均是根据残留物的溶解性质而定。但笔者关注的不是擦拭溶剂的种类,而是用量。文献描述多是擦拭工具吸附溶剂后,再挤去多余溶剂,因为溶剂多了反而在擦拭时使已经溶解了残留物质的溶剂脱离棉团仍然残留在平面上,造成回收率偏低;反之,溶剂少了,不能充分溶解残留物质,回收率还是偏低。

与没有关注擦拭溶剂的实际用量一样,研究者同样没有关注擦拭操作的时机。清洁后的设备并不会接着安排后续生产,GMP规定清洁验证时也要考虑设备清洁后保存时限的影响,因此验证溶液在平面上干燥后,不宜立即擦拭取样,特别是产品稳定性差或者同步验证微生物残留时。笔者建议在清洁验证时应至少在模拟取样时,从验证溶液干燥到实际擦拭的时间要满足清洁规程中对设备清洁后保存时限的要求。

擦拭法一般是在取样平面的纵横2个方向来回蛇形曲线擦拭,使擦拭工具与整个取样面充分接触。有的研究者为了提高回收率,在以上操作的基础上,又增加了2个相互垂直的对角线方向^[18]。另外,擦拭时也应注意力度和速度,因为力度大了,溶剂容易被挤出;速度快了,溶剂与残留接触时间短,也达不到取样目的。

4) 转溶制成供试液

擦拭取样完毕后,需要将擦拭工具上的残留物质用稀释溶剂溶解,制成最终的供试液。这里有2个问题值得考虑:一是擦拭工具上吸附的擦拭溶剂的量在制备供试液时,对稀释溶剂的体积有无影响,即供试液的体积是否精确;二是若擦拭溶剂与稀释溶剂不同,擦拭后再转溶制成供试液时是否考虑互溶性问题,是否会发生乳化现象。例

如,徐兴亚等^[16]在对乳化机的清洁验证时,以氯仿为擦拭溶剂,而在制备供试液时以甲醇为稀释溶剂;贺佩兰^[17]在研究中以四氢呋喃为擦拭溶剂,在制备供试液时以甲醇水溶液为稀释溶剂。

2.2.5 取样人员

基于取样人员对取样方法回收率的影响,多数研究都是基于1名取样人员的操作,以排除不同操作人员在操作差异,特别是擦拭操作时不同的力度、速度等的影响。但是,考虑到取样操作多人参与的实际以及不同人员对取样方法回收率的影响和效果的重现,建议定期对不同取样人员的取样方法回收率重现性的操作进行确认。可接受标准按照不同人员的回收率计算或者按照最低回收率执行。

以上所述的模拟取样的结果(即取样方法回收率)用以计算可接受标准,实际取样的结果用以与可接受标准比较来判定清洁方法的有效性(即清洁验证的结论)。因此,无论是模拟取样还是实际取样,笔者不建议由生产部门,特别是清洁人员来取样,而应由质量保证部门的人员担任为宜,以避免既是运动员,又是裁判员的矛盾。清洁由生产人员来做,取样由QA人员来做,在出现异常时也有助于调查。例如清洁验证时3次实际擦拭取样的结果相互之间相差较大,而模拟取样时的RSD较小时,则说明清洁方法的规定缺乏可操作性或清洁的操作缺少重现性。

2.2.6 取样方法回收率的RSD

由于取样方法回收率的标准相对较低(回收率 $>50%$,RSD $>20%$ ^[3]),各研究结果均符合以上标准。虽然各研究者都计算了平均值,但在最终计算可接受标准时,不是取平均值,应是取最小值。

相对于取样方法回收率的最低限度要求,笔者认为其RSD的大小更为重要。RSD大,说明擦拭取样操作重现性差,回收率的数值不准确,不能准确反映残留情况。由最终得到的最小值计算出来的可接受标准也仅是清洁验证的最差条件之一。因此,要研究回收率,就要从以上“2.2.4”分析的具体操作过程入手,提高操作的重现性,尽量减小RSD。这样得出的可接受标准能反映残留的真实情况,使实际擦拭结果是否符合可接受标准的判断更为准确。

2.3 同时对检验方法回收率和取样方法回收率进行的研究

2.3.1 检验方法回收率

与“1.3”同理,在包括只针对检验方法回收率的2篇在内的7篇文献中,只有1篇向对照品溶液中加入相应的空白混合辅料^[24],即以模拟清洁对象制备检验方法回收率试验的供试液。其他6篇^[11-12,25-28]均是对清洁参照物进行了检验方法回收率试验。这6篇文献中,除2篇的研究对象是原料药^[27-28],其他4篇的研究对象均是制剂,从药典对检验方法回收率的验证要求^[5]来看,这4篇的研究对象是值得商榷的,没有考虑辅料可能带来的影响。建议充分考虑辅料对活性成分擦拭回收的影响,并进行充分的风险评估,根据评估的结果决定是用清洁对象还是清洁参照物来制备检验方法回收率试验的供试液。

2.3.2 取样方法回收率

取样方法回收率试验同样与“2.2”中介绍的基本相同。

不过有的操作步骤和结果值得注意,例如聂微等^[24]在涂布验证溶液时,将浓度为 $6.013 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液8 mL一并“洒”在1块不锈钢板划分的面积相同的2组各8块区域上,对如何确保验证溶液在16块区域上均匀分布未做详细介绍。冯笑红等^[26]在进行擦拭时,除了常规的纵横2个方向蛇形曲线擦拭以外,还增加了从平面中心开始螺旋曲线擦拭。石诚^[27]对枸橼酸西地那非生产清洁后进行了3个人的擦拭回收率的研究,每人进行3次操作,平均回收率是98.63%,RSD=0.33%;而同时做的检验方法回收率是99.95%,RSD=0.09%,2个回收率的相对偏差 $<1\%$,可见取样过程中几无样品损失,包括人员对取样操作几无影响。为避免擦拭溶剂造成对设备的二次污染,徐子航^[26]在进行擦拭时棉签不用溶剂润湿。

2.3.3 2个回收率的差异

从全部文献来看,清洁残留的分析属于微量或痕量分析,根据药典“分析方法验证指导原则”中样品中待测成分含量和回收率限度的关系,含量越低,回收率限度的范围越宽松^[5]。但从以上文献来看,检验方法的回收率均在98%~100%间,准确度很高,原因即在于多数研究的供试品不是清洁对象,而是清洁参照物,没有考虑辅料等因素的影

响,检验方法回收率相对较高。

虽然个别研究表明取样方法回收率较为一致,但不同的取样人员对最终结果的影响还是最大的,因此聂微等^[24]认为在更更换取样人员后,应对取样方法回收率重新验证。

3 讨论

3.1 回收率的概念

由前述分析,笔者认为,单纯对检验方法回收率的研究是有待商榷的。之所以会有2个不同的回收率概念,应该是对“方法”特别是“方法研究对象”的理解不同。检验方法是附属于取样方法的(检验方法回收率是包含在取样方法回收率中的),前述的检验方法回收率的研究先于取样方法回收率的作法值得探讨。

对此,笔者从3个方面进行说明:

第一,以上观点出现了概念性的问题,准确性高的检验方法(即药典和GMP的“分析方法”)研究对象是药品,这是药品安全性、有效性和质量可控性的本质要求;但是本文所述的清洁验证的检验方法,其研究对象不是药品,而是药品的残留。

第二,考虑角度不同。即便清洁验证检验方法回收率的研究对象是药品残留,多数研究者的研究对象也是残留限度级别的活性成分溶液,而非真正意义上的清洁对象。这是由于仅从“检验”角度,而没有从“分析”角度去考虑。供试品溶液作为分析方法的研究对象,以药典一部、二部任一“分析方法”的描述体例来看,一部的格式是“供试品溶液的制备”,而二部的格式则是“供试品溶液”。很明显,一部的描述更为恰当。对“分析方法”来说,供试品溶液不仅包括研究对象的溶解,还包括提取、溶出、转移等过程。笔者认为,清洁验证的取样就相当于提取、溶出、转移。

第三,是否参与计算的问题。从本文“2.2”和“2.3”的情况来看,在最终的清洁验证结论判定时,检验方法回收率并没有参与计算,参与计算的只是取样方法回收率。

因此,笔者认为,取样方法回收率的研究已经包括了检验方法回收率,结合药典一部中提及的分析方法的涵盖范围及取样回收率操作的整体过程来看,检验方法回收率仅是取样方法回收率中的一个环节,因此,建议将其调整为“分析方法回收率”的概念更为准确。

3.2 回收率研究的必要性

鉴于本文已经提出了统一的“分析方法回收率”的概念,以下讨论的回收率指的即是取样方法回收率或分析方法回收率。

从国内外发生的一些药害事件,如美国消胆胺树脂的召回事件、上海华联制药厂甲氨蝶呤药害事件等^[30],均是高风险产品(待清洁产品的活性或毒性远大于后续生产产品)引起的。因此,对于残留限度相差很大的产品,笔者认为最好不要共线生产;即使共线生产,也要根据不同的活性/毒性、服用剂量、清洁难易程度以及批量等各种因素对所有品种分组,使用不同的清洁方法,进而分别清洁验证。此种情况下的清洁验证,回收率的研究是必要的。

对于交叉污染风险很小的产品,共线生产的品种残留限度普遍较高的情况下,笔者建议可采用限度杂质测定的验证指标来考察分析方法,无须对回收率进行研究。因为除了清洁验证所采用的最差条件和分析方法回收率相对较高的RSD(RSD高即说明准确性低),在残留限度的评估分析时,也会因引用不同的安全(调整)因子^[31]有不同数量级的残留限度。因此,残留限度与乘以回收率后的可接受标准相比,仅是百分比的不同,与数量级的不同相比,可以忽略不计。

3.3 微生物残留回收率试验的必要性

上述清洁验证的回收率仅是从化学残留方面进行分析,清洁后的残留还包括清洁剂和微生物,特别对于无菌药品、微生物或细菌内毒素残留也非常重要。目前行业内对微生物残留的回收率研究不多。王桂艳等^[32]对设备清洁验证微生物残留监测使用棉签擦拭法,并对需氧菌、霉菌和酵母菌以及控制菌进行了方法适用性试验(包括回收率试验,结果在0.5~1之间);但杨健^[15]认为由于微生物不像化学残留一样有相对的稳定性,而是随时间不断地繁殖变化的,擦拭操作也会对微生物的活性造成破坏,不如对最终淋洗水的微生物情况进行研究,因而擦拭取样回收率的研究意义不大。

笔者认为,清洁验证是一个整体的概念,化学残留和微生物残留是相互呼应的,一方面,化学残留越少,微生物生存繁殖的可能性就越小;另一方面,清洁过程多伴随有消毒甚至杀菌,许多清洁剂就有消毒作用。所以,对于如何进行微生物残留方面

(不止是回收率)的验证,验证的深度和广度应该结合产品和设备的具体情形根据风险评估来决定。

4 结语

新修订《药品管理法》将风险管理作为药品管理的三大原则之一,清洁验证是有效降低药品生产过程中交叉污染风险的重要措施,而回收率又是清洁验证残留物分析方法研究的重要项目。本文通过对清洁验证中残留物分析方法相关概念进行分析比较,针对在中国知网检索到的2015-2020年的21篇文献进行梳理,对文献涉及分析方法验证的3种情形分类进行了统计分析,并着重对擦拭取样操作的过程和重点环节进行了分析,提出以下建议:在对清洁验证残留物分析方法的回收率进行研究时,应同时考虑对清洁残留的取样操作和对残留物溶液的分析,建议以分析方法回收率的概念进行方法学考察。在交叉污染风险较大的情况下,回收率的研究是必要的;但在交叉污染风险相对较小时,回收率的研究意义不大。微生物残留的回收率研究,应结合产品和设备情形根据风险评估来决定验证的深度和广度。本文提出的以上观点,是笔者在检查工作中结合对法规的理解以及目前检索到的文献分析得出的,笔者意在以此抛砖引玉,请业内专家批评指正,为药品清洁验证工作进一步厘清概念、增强操作的代表性提供参考,进而降低药品生产中污染和交叉污染的风险。

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] 颜若曦, 曹轶, 董江萍. 药品生产设备清洁验证要点及缺陷分析[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(7): 1484-1488.
- [3] 国家食品药品监督管理局药品安全监管司, 国家食品药品监督管理局药品认证管理中心. 药品生产验证指南[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 2011年第16号 关于发布《药品生产质量管理规范(2010年修订)》无菌药品等5个附录的公告有关管理事宜的公告[S]. 2011.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 2015年第54号 关于发布《药品生产质量管理规范(2010年修订)》计算机化

- 系统和确认与验证两个附录的公告[S]. 2015.
- [7] 王刚. 浅谈风险分析在药品生产设备清洁验证中的应用[J]. 机电信息, 2015, (26): 13-15.
- [8] 王波, 霍冬梅, 王誉. 复方氯唑沙宗片生产设备的清洁验证研究[J]. 海峡药学, 2016, 28(2): 19-21.
- [9] 柴振平, 高鹏, 白亚灵, 等. 化学药片剂生产设备清洁方法的验证[J]. 中国药房, 2015, 26(34): 4756-4758.
- [10] 魏巍, 刘宇. 吡拉西坦分散片设备验证的分析方法建立[J]. 化工管理, 2020, (6): 167.
- [11] 洪丽萍, 黄加秀, 蔡亚兰, 等. HPLC测定清洁验证残留物非诺贝特的含量[J]. 中国执业药师, 2015, 12(8): 28-31.
- [12] 蔡亚兰, 洪丽萍, 黄加秀, 等. HPLC测定清洁验证中残留物硝酸益康唑的含量[J]. 中国实用医药, 2015, 10(1): 237-238.
- [13] 李雪慧, 丁现帅. 兰索拉唑设备清洁的分析方法[J]. 化工时刊, 2019, 33(7): 20-21.
- [14] 黄钢, 王殊轶. 利塞磷酸钠生产设备的清洁验证[J]. 产业与科技论坛, 2015, 14(10): 74-76.
- [15] 杨健. 探讨前列地尔注射液设备清洁验证方法[J]. 科技资讯, 2019, 17(20): 46-48.
- [16] 徐兴亚, 丁苏苏, 周泉. 乳化机设备清洁及清洁验证方法的探讨[J]. 天津药学, 2017, 29(5): 12-14, 23.
- [17] 贺佩兰. 阿西替尼及其清洁验证中残留物的HPLC分析方法研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019: 41-64.
- [18] 张振, 汪广厚. 帕立骨化醇残留清洁分析方法的验证及应用[J]. 中国药业, 2020, 29(1): 67-70.
- [19] 陈月霞, 曹冬梅, 朱佳丽, 等. 唑来膦酸清洁验证分析方法研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(4): 63, 47.
- [20] 刘静, 刘秀朋. 埃索美拉唑钠中间体清洁验证残留限度检查方法学研究[J]. 北方药学, 2016, 13(8): 1-2.
- [21] 马肖梦, 黄丽敏, 许汉林. 关于设备清洁残留物限度验证的探讨[J]. 湖北中医杂志, 2016, 38(8): 69-72.
- [22] 吴青一. 生产设备清洁验证残留物盐酸米那普仑的HPLC法测定[J]. 上海医药, 2018, 39(5): 77-80.
- [23] 张璇, 于庆华, 王自远, 等. 生产过程清洁验证残留物阿哌沙班的HPLC法测定[J]. 上海医药, 2016, 37(9): 76-78.
- [24] 聂微, 李翠芬, 黄冰娥, 等. 高效液相色谱法测定清洁验证中残留物盐酸帕罗西汀的含量[J]. 中南药学, 2020, 18(2): 242-245.
- [25] 徐鹏鹤, 张婷, 余永华, 等. 甲钴胺片清洁验证分析方法研究[J]. 中国卫生产业, 2016, 13(31): 50-52.
- [26] 冯笑红, 谭家裕, 赵汝亮, 等. 注射用头孢硫脒生产线分装机清洁验证中取样方法及检验方法的建立[J]. 今日药学, 2018, 28(11): 745-748.
- [27] 石诚. 基于QBD的枸橼酸西地那非清洁残留物的分析方法开发与验证[J]. 广东化工, 2018, 45(12): 86-87.
- [28] 徐子航. 多共线产品无菌原料药车间的质量风险管理与验证实施[D]. 上海交通大学, 2017: 36-38.
- [29] 梁毅, 丁越. 药品生产设备清洁验证关键点的研究[J]. 中国药房, 2012, 23(33): 3073-3075.
- [30] 薛峰. 关于药品GMP检查中清洁验证常见问题的矫正[J]. 药学与临床研究, 2020, 28(1): 74-77.
- [31] 汤涵, 魏靖哲, 蒋蓉. 欧盟药品上市许可持有人制度下药品共用生产设施风险管理研究及对我国的借鉴[J]. 中国医药工业杂志, 2019, 50(2): 233-236.
- [32] 王桂艳, 杨俊. 洁净区表面微生物监测棉签擦拭法方法适用性试验[C]. 第十三届沈阳科学学术年会论文集(理工农医), 2016.

(收稿日期 2021年3月31日 编辑 郑丽娥)