

人血白蛋白注射液包装系统密封完整性研究

张鹏,熊巍,李文丽,张静,许凯*

(山东省医疗器械和药品包装检验研究院 国家药品监督管理局药品包装材料质量控制重点实验室,济南 250101)

摘要 **目的:** 建立人血白蛋白注射液注射剂瓶包装系统密封完整性的研究方法。**方法:** 针对人血白蛋白注射液注射剂瓶包装系统,采用玻璃微量移液管制备了 1 μm 阳性对照样品,采用激光打孔制备了 2、5 和 10 μm 的阳性对照样品。使用真空衰减法和高压放电法 2 种确定性的密封完整性测试方法进行方法参数开发和测试。**结果:** 真空衰减法因人血白蛋白药物制剂堵塞漏孔,不能有效检测出灌装人血白蛋白的注射剂瓶包装阳性对照样品的泄漏;高压放电法可有效避免因药液堵塞漏孔而无法检出泄漏。高压放电法测试电压为 9 kV,阈值为 15 W,经方法学验证表明,高压放电法具备良好的重复性、中间精密度、准确度和耐用性,泄漏检测限为 1 μm 。**结论:** 高压放电法可作为人血白蛋白注射液注射剂瓶包装系统密封完整性的有效考察手段,操作简单,结果真实可靠,且对包装无损,适合商业化产品的包装系统密封完整性检查。**关键词:** 高压放电法;注射剂瓶包装系统;真空衰减法;密封完整性;人血白蛋白注射液;漏孔堵塞;检测限

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2025) 02-0275-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0082

Study on the sealing integrity of packaging system for human albumin injection

ZHANG Peng, XIONG Wei, LI Wen-li, ZHANG Jing, XU Kai*

(Shandong Institute of Medical Device and Pharmaceutical Packaging Inspection,

NMPA Key Laboratory for Quality Control of Pharmaceutical Packaging Materials, Jinan 250101, China)

Abstract **Objective:** To establish the research method for the sealing integrity of the injection bottle packaging system for human albumin injection. **Methods:** For the injection bottle packaging system of human albumin injection, positive control samples with pore diameter of 1 μm were prepared using a glass micropipette, positive control samples with pore diameter of 2, 5 and 10 μm were prepared using laser drilling. Two deterministic sealing integrity testing methods, vacuum decay method and high-voltage leak detection method were developed and tested. **Results:** The vacuum decay method could not effectively detect the leakage of the packaging system for the human albumin drug preparation due to the blockage of the leakage hole. In contrast, the high voltage leak detection method effectively avoided undetected leakage caused by the blockage of the leakage hole by the liquid medicine. The test voltage was set at 9 kV, with a threshold of 15 W. Method validation demonstrated that the high voltage leak detection method exhibited good repeatability, intermediate precision, accuracy, and durability, with a leakage

* 通信作者 Tel:(0531)82682925; E-mail: xk021402173@126.com

第一作者 Tel:(0531)82682915; E-mail: zhangp2007@126.com

detection limit of 1 μm . **Conclusion:** The high-voltage leak detection method can serve as an effective means of inspecting the sealing integrity of the injection bottle packaging system for human albumin injection. The procedure is straightforward, and the results are both accurate and reliable, while also being non-destructive to the packaging. This method is well-suited for the sealing integrity inspection of commercial product packaging systems.

Keywords: high voltage leak detection method; injection bottle packaging system; vacuum decay method; sealing integrity; human albumin injection; leakage blockage; detection limit

药品包装系统在产品研发、生产、贮存、使用的整个生命周期中,都应保持密封完整性^[1-3]。一旦药品包装系统发生泄漏,可能导致微生物侵入或外部液体和固体物质的侵入,从而给药品使用者的安全造成隐患^[4-5]。国外曾发生因包装完整性受损导致约 10% 的用药患者死亡的案例^[6],因此,包装密封完整性是保障药品质量和安全的重要因素^[7]。国家药品监督管理局药品审评中心于 2020 年 5 月发布的《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》^[8]指出,在生产工艺验证和稳定性研究中,均应进行包装密封完整性验证。2020 年 10 月发布的《化学药品注射剂包装系统密封完整性研究技术指南(试行)》^[9]则详细阐述了注射剂包装密封性检查方法的选择和验证,为现阶段密封完整性考察提供了指导。国家药典委员会已立项制定《无菌药品包装系统密封性研究指导原则》,目前已开始公开征求意见,此举将为国内的密封完整性研究提供指导^[10]。

真空衰减法和高压放电法都是目前应用最广泛的对包装密封完整性无损测试的确定性方法。真空衰减法是将待测样品放入适宜的测试腔体内,施加一定的负压,通过监测真空度的衰减程度或速度来判断样品密封是否完好^[11];高压放电法(也称为电导率和电容泄漏测试法)则是将样品全部或部分暴露在高电压、高电压、低电流的环境下,若导电液体制剂的包装存在泄漏路径,将会导致测试电阻/电容下降(电流上升),通过比较样品的电流峰值与泄漏阈值,可以判定包装系统是否存在泄漏^[12-14]。

本研究以 2 mL 中硼硅玻璃管制注射剂瓶、 Φ 13 mm 溴化丁基橡胶塞和铝塑组合盖组成包装系统的人血白蛋白注射液为研究样品,借助真空衰减法和高压放电法 2 种确定性测试方法进行密封完整性方法的开发并进行方法学验证,建立了适用于人血白蛋白注射液注射剂瓶包装系统的密封完整性测试方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

VeriPac 455 型真空衰减泄漏检测仪(PTI 公司);SPAX-HV 型高压放电法检漏仪(上海奇宜仪器设备有限公司)。

1.2 试剂

1.2.1 阴性对照样品 在生产工艺条件下灌装人血白蛋白注射液并轧盖,制备无已知缺陷的样品作为阴性对照样品。

1.2.2 阳性对照样品 采用激光打孔制备阳性对照样品,标称孔径分别为 2、5 和 10 μm ,并通过气体流量法进行孔径校准;采用玻璃微量移液管制备阳性样品,标称孔径为 1 μm ,并通过显微镜法进行校准。玻璃微滴管和激光打孔制备的漏孔均在注射剂瓶身的装液部位制作。

1.2.3 测试样品 3 个不同批次的人血白蛋白注射液包装系统。阴性对照样品、阳性对照样品、测试样品详细清单如表 1 所示。

2 方法与结果

2.1 真空衰减测试方法开发

2.1.1 真空衰减法测试参数 针对研究样品选取适宜的测试腔体,经过参数开发和验证,真空衰减法主要测试参数设置如下:Cycle 1 的平衡时间和测试时间为 1 s;Cycle 2 的抽真空时间为 12 s,平衡时间为 12 s,测试时间为 15 s。

2.1.2 阴性对照样品的测试及泄漏阈值的设定 使用组别 N 的阴性对照样品 20 只,按“2.1.1”项下参数进行测试,每个样品测试 3 次,60 次真空衰减测试的平均值为 30.2 Pa,标准偏差为 4.77 Pa。泄漏阈值取所有阴性对照样品测试平均值与其 3 倍标准偏差之和^[15-17],设定为 45 Pa。若测试结果 < 45 Pa,判定为 Pass;若测试结果 \geq 45 Pa,判定为 Fail。

2.1.3 阳性对照样品的测试 使用组别 V1~V3、P2~P4 的阳性对照样品,按“2.1.1”项下参数进行测试,每个样品测试 3 次,结果如表 2 所示。

表 1 阴性对照样品、阳性对照样品、测试样品详细清单

Tab. 1 The list of negative control samples, positive control samples and test samples

组别 (test group)	样品描述 (sample description)	标称孔径 (nominal diameter)/ μm	校准孔径范围 (calibrating diameter range)/ μm	样品数量 (sample quantity)/ 个
N	阴性对照样品 (negative control sample)	/	/	20
V1	激光打孔阳性对照样品,空包装系统 (laser drilling positive control sample, empty packaging system)	2	2.17~2.27	5
V2	激光打孔阳性对照样品,空包装系统 (laser drilling positive control sample, empty packaging system)	5	4.06~5.66	5
V3	激光打孔阳性对照样品,空包装系统 (laser drilling positive control sample, empty packaging system)	10	8.72~10.44	5
P1	玻璃微量移液管阳性对照样品,灌装药液 (glass micropipette positive control sample, filling liquid medicine)	1	0.93~1.05	30
P2	激光打孔阳性对照样品,灌装药液 (laser drilling positive control sample, filling liquid medicine)	2	1.49~2.81	30
P3	激光打孔阳性对照样品,灌装药液 (laser drilling positive control sample, filling liquid medicine)	5	4.80~5.50	30
P4	激光打孔阳性对照样品,灌装药液 (laser drilling positive control sample, filling liquid medicine)	10	9.59~9.91	30
T1	测试样品 (test sample)	/	/	20
T2	测试样品 (test sample)	/	/	20
T3	测试样品 (test sample)	/	/	20

表 2 阳性对照样品真空衰减法测试结果

Tab. 2 The test results of positive control samples by vacuum decay method

组别 (test group)	样品测试总数 (sample test count)/次	参考真空衰减 (reference vacuum decay)/Pa	测试判定 (test decision)
V1	15	51~58	Fail
V2	15	53~128	Fail
V3	15	293~302	Fail
P2	15	32~38	Pass
P3	15	30~35	Pass
P4	15	32~36	Pass

从表 2 可以看出:对于标称孔径分别为 2、5 和 10 μm 的 V1~V3 空包装系统阳性对照样品,采用真空衰减法的测试值均大于预先设定的泄漏阈值,判定为 Fail,正确率为 100%,能够很好地与阴性对照样品区分;对于灌装人血白蛋白注射液的阳性对照样品 P2~P4,测试数值均小于预先设定的泄漏阈值,判定为 Pass,正确率为 0%。由此可见,真空衰减法不能有效检测出人血白蛋白注射液的阳性对照样品包装系统泄漏。

2.2 高压放电法参数开发及测试

注射剂瓶包装系统的瓶口胶塞和铝盖位置受生产工艺控制影响发生泄漏的可能性较大,是影响包装密封完整性的关键部位^[18],测试过程中程序设定需

确保仪器的测试电极可检测到该处的泄漏风险。高压放电法测试时,样品表面需保持干燥,避免测试时电极间发生短路。对同一样品重复测试时,为消除残余电荷对测试结果的影响,将样品从检查区域移开且放置时间不少于 5 min。

采用试验仪器配套的样品旋转定位装置和移动电极,调整电极位置使电极旋转时电压可覆盖整个测试样品。将组别 N 的阴性对照样品和组别 P1~P4 的阳性对照样品依次放入仪器检查区域,起始电压设定为 7 kV,电极移动速度为 25 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$,测试过程中会产生连续的功率数据,取功率最大值,参数开发测试结果如表 3 所示。测试电压为 7 kV 时,P1 和 P2 2 组阳性对照样品判定为 Pass,未检出泄漏;提高测试电压至 8 kV,P1 组阳性对照样品判定为 Pass,未检出泄漏。

当测试电压设定为 9 kV 时,对组别 N 的阴性对照样品连续 3 d 进行测试,60 次测试的平均值为 12.4 W,标准偏差 0.74 W。泄漏阈值同样取所有阴性对照样品测试平均值与其 3 倍标准偏差之和,设定为 15 W。当测试结果 < 15 W 时,判定为 Pass;测试结果 ≥ 15 W 时,判定为 Fail。使用组别 P1~P4 的阳性对照样品,采用已开发的测试参数连续 3 d 重复 3 次测试,P1~P4 阳性对照样品均能正确检出泄漏,测试结果见表 4。综上,确定本研究测试电压为 9 kV。

表 3 高压放电法参数开发测试结果

Tab. 3 The test results of parameter development by high voltage leak detection method

电压设定 (voltage setting)/kV	组别 (test group)	测试值 (test values)/W	阈值设定 (threshold setting)/W	测试判定 (test decision)
7	N	8.3~9.5	12	Pass
	P1	8.5~9.4		Pass
	P2	8.7~9.6		Pass
	P3	15.8~83.6		Fail
	P4	16.7~92.4		Fail
8	N	9.8~11.7	14	Pass
	P1	10.3~11.9		Pass
	P2	15.6~52.7		Fail
	P3	16.4~91.2		Fail
	P4	16.6~98.4		Fail

表 4 阳性对照样品高压放电法(测试电压 9 kV)测试结果

Tab. 4 The test results of positive control samples by high voltage leak detection method (test voltage of 9 kV)

组别 (test group)	样品测试总数 (sample test count)/次	测试值 (test values)/ W	测试判定 (test decision)	准确度 (accuracy)/ %
P1	15	17.9~55.0	Fail	100
P2	15	17.8~199.6	Fail	100
P3	15	20.3~159.2	Fail	100
P4	15	18.2~105.8	Fail	100

2.3 高压放电测试方法学验证

2.3.1 检测限 检测限是检测方法能够检出的最小泄漏孔径,检测限验证要求为阴性对照样品全部测试 Pass,预期确定检测限的阳性对照样品全部 Fail。从表 4 中不同泄漏孔径的阳性对照样品的测试结果看,阴性对照样品均判定为 Pass,阳性对照用样品均判定为 Fail,均能正确检出,检测限为 1 μm ,

2.3.2 准确度 准确度是指正确区分泄漏超过声称检测限的包装系统与泄漏低于此限度的包装系统的能力^[3,12,17]。表 4 中 1 μm 的阳性对照样品 P1 测试值与阴性对照样品测试结果能够 100% 完全正确区分,证明方法准确度良好。

2.3.3 精密度 从表 4 中不同泄漏孔径的阳性对照样品的测试结果看,高压放电法测试的定量数据与泄漏孔径之间无线性关系且测试数据具有较大波动性,故精密度验证采用阴性对照样品进行。2 名测试人员对每个阴性对照样品每天测量 1 次,总共测量 3 d,计算重复性及中间精密度。2 名测试人员重复性测试的 RSD 分别为 5.9% 和 4.6%,中间精密度的 RSD 为 5.3%。

2.3.4 耐用性 将测试电压进行 ± 0.1 kV 的微调,验证测试电压 9 kV 的耐用性,对阴性对照样品 N 和阳性对照样品 P1~P4 进行泄漏测试。经验证,电压为 8.9 kV 和 9.1 kV 时,阴性对照样品和阳性对照样品均能 100% 正确判定,证明参数耐用性良好。

2.4 样品测试

使用经方法学验证的高压放电测试方法对组别为 T1~T3 的 3 批不同批号的人血白蛋白注射液包装系统样品分别进行测试,结果如表 5 所示。测试结果均判定为 Pass,表明所有测试样品均无超过 1 μm 的漏孔。

表 5 测试样品高压放电法测试结果

Tab. 5 The test results of test samples by high voltage leak detection method

组别 (test group)	样品测试总数 (sample test count)/次	测试值 (test values)/W	测试判定 (test decision)
T1	20	11.8~13.8	Pass
T2	20	12.0~13.9	Pass
T3	20	10.0~12.1	Pass

3 讨论与结论

采用真空衰减法进行密封完整性检测研究时发现,空包装系统阳性对照样品作为对照可以检出泄漏但灌装药液的阳性对照样品未检出泄漏,证明是由于药液制剂原因导致无法检测泄漏。究其原因,人血白蛋白作为一种大分子蛋白类生物制剂,按照 ASTM F2338 中给出的真空衰减法测试原理^[19],测试过程中对测试腔体抽真空并保持高真空度,在真空压力作用下大分子蛋白质向泄漏孔径移动,真空度低于包装系统内液体的汽化压时会导致泄漏通道内或附近的液体挥发,大分子蛋白质在漏孔附近集聚从而堵塞漏孔,造成假阴性的测试结果,故真空衰减法不能有效检测出灌装人血白蛋白注射液的阳性对照样品泄漏^[1,6,15,20-21]。

采用高压放电法对注射剂瓶包装系统的人血白蛋白注射液进行测试,注射剂瓶包装系统的导电性低于内部药液的导电性,对于无泄漏的样品测试产生较低的电流,当包装有泄漏且药液处于漏孔附近或填充在漏孔中时,对样品施加高电压,包装的电阻值降低且通过的电流会大幅增加,当电流增加到一定程度超过泄漏阈值时提示包装泄漏。本研究检测限为 1 μm ,达到《化学药品注射剂包装系统密封型研究技术指南(试行)》中的高压放电法 3 级检测限,高于指南中包装系统密封性检测常用的微生物挑战法和色水法等概率性方法的 4 级检测限。

高压放电法有效避免了药物堵塞漏孔导致泄漏

无法检出情况,通过对人血白蛋白注射液注射剂瓶包装系统测试样品进行检测,高压放电法检测灵敏度高且测试速度快,可作为蛋白类大分子生物制剂包装系统密封完整性的有效考察手段,操作简单,结果真实可靠,且对包装无损,适合商业化产品的包装系统密封完整性检查。

参考文献

- [1] 陈江,王俊苏,关天横,等.注射剂包装密封完整性检测技术研究进展[J].中国药业,2021,30(2):5
CHEN J, WANG JS, GUAN TH, *et al.* Research progress of container closure integrity test of injections[J]. *China Pharm*, 2021, 30(2): 5
- [2] 姚琳,咸富荣,张芳芳.质量提取法测试西林瓶包装系统密封性[J].中国医药工业杂志,2022,53(7):1013
YAO L, XIAN FR, ZHANG FF. Mass extraction method for the package integrity testing of vials[J]. *Chin J Pharm*, 2022, 53(7): 1013
- [3] 杨梦雨,贾菲菲,赵霞,等.质量提取法检测直立式聚丙烯输液袋密封完整性研究[J].中国药学杂志,2022,57(18):1565
YANG MY, JIA FF, ZHAO X, *et al.* Container closure integrity of upright polypropylene infusion bags by mass extraction method[J]. *Chin Pharm J*, 57(18): 1565
- [4] MOGHIMI N, SAGI H, PARK SI. Leakage analysis of flexible packaging: establishment of a correlation between mass extraction leakage and microbial ingress[J]. *Food Packaging Shelf*, 2018, 16(2): 225
- [5] YOON SY, SAGI H, GOLDDHAMMER C, *et al.* Mass extraction container closure integrity physical testing method development for parenteral container closure systems[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2012, 66(5): 403
- [6] BROWN H, MAHLER HC, MELLMAN J, *et al.* Container closure integrity testing—practical aspects and approaches in the pharmaceutical industry[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2017, 71(2): 147
- [7] 陆维怡,姚雪凌,孙甜甜.氦质谱(真空模式)考察管制玻璃注射剂瓶包装密封完整性[J].药物分析杂志,2022,42(4):704
LU WY, YAO XL, SUN TT. Helium mass spectrometry (vacuum mode) used to investigate the container closure integrity of the vials systems for injection[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, 42(4): 704
- [8] 国家药品监督管理局药品审评中心.化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求[EB/OL].(2020-05-14)[2023-12-28].<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11>
Center for Drug Evaluation, NMPA. Technical Requirements for Quality and Efficacy Consistency Evaluation of Generic Drugs for Chemical Injections [EB/OL]. (2020-05-14) [2023-12-28]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11>
- [9] 国家药品监督管理局药品审评中心.化学药品注射剂包装系统密封完整性研究技术指南(试行)[EB/OL].(2020-10-21)[2023-12-28].<https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a4f9f16844fbed617f8e8ed59485c1d>
Center for Drug Evaluation, NMPA. Guideline to Container Closure Integrity Test for Chemical Injections (Trial) [EB/OL]. (2020-10-21) [2023-12-28]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a4f9f16844fbed617f8e8ed59485c1d>
- [10] 陆维怡,蔡荣.国内外药品包装系统密封完整性研究与保障药品质量安全的思考[J].中国药事,2021,35(7):828
LU WY, CAI R. Study on sealing integrity of drug packaging system at home and abroad and consideration on ensuring drug quality and safety[J]. *Chin Pharm Aff*, 2021, 35(7): 828
- [11] 王冬伟,张博,于晓慧,等.真空衰减法测试无菌药品包装密封完整性过程中关键参数的考察[J].中国医药工业杂志,2023,54(2):268
WANG DW, ZHANG B, YU XH, *et al.* Investigation on key parameters of vacuum decay method for container closure integrity testing of sterile product packaging system[J]. *Chin J Pharm*, 2023, 54(2): 268
- [12] USP <1207.2> Package Integrity Leak Test Technologies[S].2017
- [13] SIMONETTI A, AMARI F. Non-destructive vacuum decay method for pre-filled syringe closure integrity testing compared with dye ingress testing and high-voltage leak detection[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2015, 69(1): 108
- [14] MÖLL F, DOYLE DL, HAERER M, *et al.* Validation of a high voltage leak detector for use with pharmaceutical blow-fill-seal containers—A practical approach[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 1998, 52(5): 215
- [15] DAMGAARD R, RASMUSSEN M, BUUS P, *et al.* High-voltage leak detection of a parenteral proteinaceous solution product packaged in form-fill-seal plastic laminate bags. Part 1. Method development and validation[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, 67(6): 634
- [16] LI L. Container closure integrity testing method development and validation for prefilled syringes[J]. *Am Pharm Rev*, 2013, 16(1): 48
- [17] 高梓真,毛文星,周琪,等.真空衰减法测定劳拉西洋注射液的包装密封性[J].中国药业,2023,32(23):24
GAO ZZ, MAO WX, ZHOU Q, *et al.* Detection of closure integrity of lorazepam injection by vacuum decay method[J]. *China Pharm*, 2023, 32(23): 24
- [18] 马骏威,郭涤亮,刘涓,等.胶塞/玻璃瓶容器密封完整性研究的探讨[J].中国新药杂志,2021,30(5):394
MA J W, GUO D L, LIU J, *et al.* Discussion on the container closure integrity of rubber stopper/glass container[J]. *Chin J New Drugs*, 2021, 30(5): 394
- [19] ASTM International. Standard Test Method for Nondestructive Detection of Leaks in Packages by Vacuum Decay Method: ASTM F2338-09 (Reapproved 2020)[S].2020
- [20] 杨梦雨,赵霞,孙会敏.无菌制剂容器密封完整性检测技术和相关法规研究进展[J].中国新药杂志,2022,31(3):245
YANG MY, ZHAO X, SUN HM. Research progress on container-closure integrity regulations and detection technology aseptic preparation[J]. *Chin J New Drugs*, 2022, 31(3): 245
- [21] WARNE NW, MAHLER HC. Challenges in Protein Product Development[M]. Switzerland: Springer Cham, 2018: 257

(本文于2024年2月3日收到)