

方法变更的分类和接受标准与评估方式探讨

朱容蝶¹, 耿颖², 杜颖², 谭德讲^{2*}, 陈华², 邱志均¹

(1. 北京协和药厂有限公司, 北京 102629; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要:方法变更作为方法全生命周期中的一环,随着新技术的不断涌现,对产品质量需求的不断提高,3R 和环境保护以及降低成本等要求的不断增加,越来越受到重视。本文参考国内外对方法学研究的最新进展,从方法学角度对方法变更进行系统的类别划分,并对不同方法变更类型间的差异和对变更后方法的评价标准和实施方式进行探讨。

关键词:方法变更;方法替代;方法转移;方法改进;等效性检验;非劣效性检验;预测区间;容忍区间

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024)04 - 0562 - 05

doi: 10. 16155/j. 0254 - 1793. 2024. 04. 02

Discussion on the classification, acceptance criteria and assessment approaches of the change of analytical procedure

ZHU Rong - die¹, GENG Ying², DU Ying²,
TAN De - jiang^{2*}, CHEN Hua², QIU Zhi - jun¹

(1. Beijing Union Pharmaceutical Factory LTD, Beijing 102629, China; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract: The change of analytical procedure, a part of the entire lifecycle of a method, is increasingly valued with the emergence of new technologies, the increasing demand for product quality, 3R, environmental protection, and cost reduction requirements. This paper refers to the latest progress in the study of counterpart law at home and abroad, systematically classifies changes of analytical procedures from the perspective of methodology, and discusses the differences between different types of changes and the evaluation criteria and implementation approaches of analytical procedures after procedure changes.

Keywords: change of analytical procedure; alternative of analytical procedure; transfer of analytical procedure; improvement of analytical procedure; equivalence test; non - inferior test; prediction interval; tolerance interval

分析方法的全生命周期(lifecycle)包括方法的设计和开发(design and development)、方法验证(validation)、方法的持续确认(ongoing verification)和方法变更(change of analytical procedure)等环节,详见图 1^[1]。方法变更是指对方法经批准使用后所

做改变的一个统称,是方法全生命周期中的重要环节。

同产品上市后的变更一样,分析方法在整个产品生命周期内均有可能发生变更,如采用更先进的分析技术建立起来的方法,采用更能保护环境(包括

* 通信作者 Tel: (010)53851581; E - mail: tandj@nifdc.org.cn

第一作者 朱容蝶 Tel: (010)89206811 - 8076; E - mail: rongdiezhu@163.com

耿颖 Tel: (010)53851603; E - mail: gy - vera@163.com

个属性之间有完全的层级因果(递进)关系,如中小分子的含量与效应。这类方法替代,应该特别注意是否有别的影响因素造成2个属性间不能建立良好的模型关系。③属性间无完全因果关系的方法替代。检测原理和机制完全不同的方法,同时2种方法所检测的属性间也没有必然的因果关系。如对新冠疫苗活性的检测,从最初的检测动物体内产生抗体方法,转变为使用ELISA法在体外检测疫苗抗原

活性;脊髓灰质炎灭活疫苗最初纳入欧洲药典时采用免疫后大鼠或鸡血清中抗体的体内检测方法,转变为使用D抗原含量检测法^[2];化妆品中采用体外3T3中性红成纤维细胞光毒试验(3T3NRU光毒试验)法替代动物的皮肤光毒试验^[3]等。其分析方法的ATP已从根本上发生变化,需重新开始新的方法探索。

通过上述分析,方法变更可汇总成图2。



图2 方法变更的分类

Fig. 2 Classification of changes of analytical procedure

2 变更类型的差异

对于方法改进、方法转移和方法替代3类变更方式,每一类都有其专属的定义和适用情况。

2.1 方法改进 方法改进,是一种基于风险管理,在不影响方法预期用途的情况下,对已确定分析方法相关参数的改变,主要包括它在方法开发期间获得的数据(例如,实验设计(DOE)的耐用性实验)、既定条件(EC)、经证实的分析方法可接受范围(PAR)或方法可操作设计区域(MODR)内或外的方法相关参数^[1]。对于改进的方法,其各操作步骤和实验地点没变,仅是MODR相关参数的变化,如改变色谱柱的品牌而造成的分离效果不佳,需调整色谱参数以达到良好的分离效能。

2.2 方法转移 方法转移是指一个实验室(接收方)能够使用由另一个实验室(转移方,也称作转出方)所开发检验方法的过程,并确保接收的实验室明确检验的程序并有能力按规定进行检验^[4]。方法转

移的目的就是保证检验结果的准确可靠,保证实验室间检验结果的一致性,同时也是对实验室检验能力的重要评估^[5]。方法转移常见的情况有生产企业的研发实验室转移到质控实验室;同一生产企业转移到外包生产企业等^[6]。

2.3 方法替代 目前各国的法规和药典中给出的定义各有不同,但其核心内容可简单概括为“方法替代是用一种新的经过验证的方法(新方法),替代现有的法定方法(原方法)”。有关替代方法3种类型的实际应用如液相色谱方法替代分光光度方法、细胞实验替代动物实验等在本文“1”项中已详述,在此不再赘述。

3 评价标准和实施措施

3.1 方法改进 方法成功改进的标准:改进后的方法是否能够满足(药典或法定)有关方法验证形成的判定标准^[4,7]。

方法改进成功的判定视修订情况的不同存在差

异。①对于方法在既定条件(EC)、经证实的分析方法可接受范围(PAR)或方法可操作设计区域(MODR)内的方法修订,无需进行前后比较,仅从风险评估的角度进行评估即可;②对于超出上述范围的修订,需对修订后的方法进行方法验证^[8],具体的评价标准参照药典或法定标准。

3.2 方法转移 方法成功转移的标准是转移后方法的检测结果(报告值)是否处于主研发实验室方法验证给出的报告值预测区间或容忍区间范围内,或至少等效于原实验室的报告结果,即使用主研发实验室的验证标准进行判断。这里一般采用部分验证或共同验证。

参考文章“分析方法确认和转移的评估标准探讨”^[9]中对于转移是否成功判定方式的介绍,确定转移后的方法与转移前方法检测能力相当的评价方式有方法的总变异、预测区间或容忍区间,方法误判率或方法能力指数等。在方法转移是否成功的判定中,可以通过与主研发实验室已建立起的上述验证标准去比较。过去一般使用准确度和精密度的判断方式,需要进行独自验证或部分验证,目前一种简单的方式,就是把转移后实验室的检测报告值与原实验室方法验证标准中预测区间或容忍区间去比较即可。这里需注意,容忍区间较预测区间更宽(大);使用预测区间对转移后的方法检测结果进行判断,当满足后,可保证方法更可靠或风险更小。但在目前国内方法验证所得数据集不容易计算该类区间的情况下,该方式难以实施。

总之,方法转移可采用上述方式,直接与已有的验证标准对比即可。有关详细的概念和运算可参考相关文献^[9-10]。

3.3 方法替代 替代成功的接受标准为等效或适用。

从图 1 可见,替代分为 3 类。一类是检测属性和/或检测技术发生变化(ATP 发生变化),但 2 个属性间存在完全的因果关系;一类是检测属性和/或检测技术发生变化(ATP 发生变化),但 2 个属性间无(完全)因果关系;一类是检测属性没变(ATP 没变),仅检测技术发生变化。

检测属性和/或检测技术发生变化(ATP 发生变化),但 2 个属性间存在完全因果关系的情形,因为对产品的检测属性有完全的因果关系,可对检验结果进行量值转换,确定新方法和原方法间是否存在

一定的模型关系来判断新方法是否能够替代原方法。

检测属性发生变化的情形,由于检测属性发生变化,2 种方法难以进行直接比较。这时,需要从保证产品质量的初心出发,判断新方法是否能够替代原有检测属性的方法。有时可能需要使用多种新属性的检测方法方可替代原有方法,如原检测抗原活性的动物体内方法,当用体外方法替代时,需要检测抗原含量和抗原结构等体外方法组合来替代。对于这类方法,很难进行直接比较,一般需从产品放行的质量风险角度加以考虑,也可通过对前期放行检验结果的批次进行检验,通过质反应数据的结论比较或质反应-量反应的 ROC 曲线方式找出替代方法检测连续性结果保持一致结论的量值方式^[10],这都需要通过对更大量数据样本计算后方可得到可靠结论。

对检测属性没变,仅检测技术发生变化的替代方式,首先应该对替代方法进行验证,确定替代方法是否能够满足其预期的用途,然后按等效或者优于的方式进行 2 种方法的比较研究^[4,11-12]。

关于新方法的验证,可参考现有国内外药典^[4-5]和 ICH 相关指导原则^[1,7]。

4 讨论

4.1 应加强方法验证工作的科学严谨性 变更后的方法是否能够满足预期检验用途,首先与方法本身验证结果的稳健可靠密切相关。因此,需要对新方法的验证进行科学严谨的实验设计(样本量、I 类和 II 类错误的确定,以及实验次数等),以从整体把控方法,获得与方法变异或方法能力相关的参数,包括预测区间和容忍区间等,为方法变更后提供变更成功的判定标准。

4.2 推荐使用等效性检验进行方法替代比较 t 检验有许多的局限性^[13-14]。首先其最大的缺陷是即便差异具有显著性,也不能反映 2 组数据之间是否有有意义的差别(即不等效)。其次,当采用双样本 t 检验来判定 2 组样本是否等效时,其结果受检验的精密度以及样本量的影响。当传统的 t 检验是采用较差的精密度和/或小的样本量来进行比较时,较易出现假阴性结果,即将 2 种有显著差异的方法,判断为无差异,或误认为二者等效;而当二者的样本量较大时,又易出现将 2 个没有差异的方法判定为有显著差异,即不等效的情况。因此在判定 2 种方法检

验数据集是否等效时推荐采用等效性检验^[15],而非差异性检验^[16-17]。

4.3 应重视对方法的知识管理和风险管理^[1] 知识管理和风险管理贯穿分析方法的全生命周期。知识管理用于定期评估科学且合适的分析技术;风险管理可用于优化影响分析方法性能的方法参数、评估分析方法参数对分析方法性能的潜在影响,以及确定并优先考虑需进行实验研究的分析参数。因此,通过知识管理和对影响因素的周期性评估,可更好地发现变更的方向,使检测方法更加科学可靠。此外,通过对变更相关风险的评估以及既往知识的累积,能够确保分析方法在变更后始终符合目的。

参考文献

- [1] ICH. Analytical Procedure Development Q14[EB/OL]. 2022[2023-02-15]. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q14_Document_Step2_Guideline_2022_0324.pdf
- [2] 张旋旋, 吴星, 毛群颖, 等. 《欧洲药典》通则“用于疫苗质量控制的体外方法替代体内方法”的解读和思考[J]. 中国生物制品学杂志, 2023, 36(1):1
ZHANG XX, WU X, MAO QY, *et al.* Interpretation and consideration of “Substitution of *in vivo* method(s) by *in vitro* method(s) for the quality control of vaccines” in General Texts of European Pharmacopoeia[J]. *Chin J Biol*, 2023, 36(1):1
- [3] 杨颖, 熊刁昆, 杨杏芬, 等. 3T3 细胞光毒替代实验的建立及在化妆品评价中的应用[J]. 中华预防医学杂志, 2007, 41(6):479
YANG Y, XIONG DK, YANG XF, *et al.* The establishment and assessment on cosmetic products using 3T3 mouse fibroblast neutral red uptake phototoxicity assay[J]. *Chin J Prev Med*, 2007, 41(6):479
- [4] USP-NF. <1224>, <1225>, <1210> [EB/OL]. 2021 [2023-02-15]. https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M5511_04_01.html, https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M99945_04_01.html, https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M8646_06_01.html
- [5] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 479, 480
ChP 2020. Vol IV[S]. 2020: 479, 480
- [6] 许明哲, 黄宝斌, 杨青云, 等. 分析方法转移内容介绍[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(1):176
XU MZ, HUANG BB, YANG QY, *et al.* Introduction to the concept and content of analytical method transfer[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2015, 35(1):176
- [7] ICH. Validation of Analytical Procedures Q2(R2) [EB/OL]. 2022[2023-03-07]. [ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q2_R2_Validation_of_Analytical_Procedures_Step_2b_en.pdf) (europa.eu)
- [8] 李娜, 耿颖, 谭德讲, 等. 分析方法确认和转移的评价标准探讨[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(4):675
LI N, GENG Y, TAN DJ, *et al.* Discussion on the criteria for successful method verification and transfer[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2021, 41(4):675
- [9] 谭德讲, 朱容蝶, 耿颖, 等. 判断定量类理化分析方法满足预期用途的标准探讨[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(2):196
TAN DJ, ZHU RD, GENG Y, *et al.* Discussion about the criteria of quantitative physicochemical analytical methods for satisfying their intended use[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(2):196
- [10] 冯国双, 朱容蝶, 谭德讲, 等. 药品检验中等效区间的确定方法与应用[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(48):3835
FENG GS, ZHU RD, TAN DJ, *et al.* Methods and applications for determining the equivalent interval of drug testing[J]. *Nat Med J China*, 2017, 97(48):3835
- [11] CHAMBER D, KELLY G, LIMENTANI G, *et al.* Analytical method equivalency: an acceptable analytical practice[J]. *Pharm Technol*, 2005, 29(9):64
- [12] ICH. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products; Chemical Substances Q6A [EB/OL]. 1999[2023-02-15]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q6A_Guideline.pdf
- [13] 孙远航, 孙丽. 关于统计检验局限性的思考[J]. 辽宁教育行政学院学报, 2003, 20(9):33
SUN YH, SUN L. Reflection on the limitations of statistical testing[J]. *J Liaoning Educ Adm Inst*, 2003, 20(9):33
- [14] 徐永林. *t* 检验的误区[J]. 中国实用医药, 2006, 1(5):1673
XU YL. Misunderstandings of *t*-test[J]. *China Pract Med*, 2006, 1(5):1673
- [15] 于莉莉, 夏结来, 陈启光, 等. 显著性检验与等效性检验的区别与联系[J]. 中国卫生统计, 2005, 22(1):37
YU LL, XIA JL, CHEN QG, *et al.* The difference and connection between the significance test and the equivalence test[J]. *Chin J Health Stat*, 2005, 22(1):37
- [16] LIMENTANI GB, RINGO MC, YE F, *et al.* Beyond the *t*-test: statistical equivalence testing[J]. *Anal Chem*, 2005, 77(11):221A
- [17] 穆广杰. *t* 检验失效的原因及处理[J]. 统计与决策, 2011, 27(21):171
MU GJ. The cause and solution of *t*-test failure[J]. *Stat Decis*, 2011, 27(21):171

(本文于 2023 年 11 月 14 日收到)