·新药注册与审评技术·

化学药品注射剂灭菌工艺研究及验证的基本考虑

赵　娜,石　靖,许真玉,李珊珊
(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] 2020 年 12 月,国家药品监督管理局药品审评中心(以下简称药审中心)公布了《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则(试行)》。本文结合该指导原则的起草和修订,对湿热灭菌工艺的重要概念、灭菌工艺选择的决策树进行了阐明,对湿热灭菌工艺研究和验证中的关注点进行了讨论,对修订要点及新增内容进行了分析和梳理,旨在为后续化学药品注射剂仿制药一致性评价的研究提供更多的参考。

[关键词] 化学药品注射剂;湿热灭菌工艺;灭菌工艺研究及验证
[中图分类号] R95　[文献标志码] A　[文章编号] 1003 - 3734(2021)16 - 1456 - 04

Basic considerations for the research and validation of the sterilization process of chemical injections

ZHAO Na, SHI Jing, XU Zhen-yu, LI Shan-shan
(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022, *China*)

[**Abstract**] In August 2020, the Center for Drug Evaluation of National Medical Products Administration issued the "Guideline of the research and validation of the terminal sterilization and aseptic process of chemical injections (for trial implementation)". In this article, based on the draft and revision of the guideline, some important glossaries of the steam sterilization process and decision tree for sterilization choices for chemical injections were clarified, concerns of the research and validation of the steam sterilization process were discussed, and the main points of amendments and the new contents were analyzed and sorted out, in order to provide more references for the follow-up study on consistency evaluation of generic chemical injections.

[**Key words**] chemical injections; steam sterilization process; research and validation of sterilization process

无菌保证水平(sterility assurance level, SAL)是注射剂的关键质量属性之一,在注射剂研发、审评、生产和上市后监管各个环节均需要给予充分的关注。技术要求方面,《化学药品新注册分类申报资料要求(试行)》[1]、《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》[2]、《M4:人用药物注册申请通用技术文档(CTD)》模块一文件及 CTD 中文版[3]对于无菌制剂或注射剂的申报,均要求提供相应的灭菌/无菌工艺验证资料,并提到:"注射剂灭菌/无菌工艺的研究和选择应参考国内外灭菌/无菌工艺相关的指导原则进行。"为了规范无菌药品研究和验证工作,2008 年原国家食品药品监督管理局发布了《化学药品注射剂基本技术要求(试行)》(以下简称 7 号文)[4]。原国家食品药品监督管理总局药品审评中心(以下简称药审中心)于 2013 年 2 月形成《灭菌/无菌工艺验证指导原则(征求意见稿)》[5](以下简称 2013 年征求意见稿),但一直未正式发布;2018 年国家药品监督管理局发布了由食品药品审核查验中心组织起草的《除菌过滤技术及应用指南》、《无菌工艺模拟试验指南(无菌制剂)》等指南[6]。

湿热灭菌法作为一种主要的最终灭菌工艺,灭菌能力强,为热力灭菌中最有效、应用最广泛的灭菌工艺,也是灭菌工艺选择时优先选用的灭菌工艺。近年来,国外化学药品注射剂灭菌工艺验证的相关技术要求已不断完善,欧美均有对于灭菌工艺验证

[作者简介] 赵娜,女,硕士研究生,中级工程师,主要从事药物分析研究和化学药品药学审评工作。联系电话:(010)68582602,E-mail:zhaon@cde.org.cn。
[通讯作者] 石靖,女,硕士研究,副主任药师,主要从事化学药品技术审评及药物审评技术要求和指导原则的拟定等工作。联系电话:(010)68582662,E-mail:shij@cde.org.cn。

的相关要求，如美国注射剂协会（Parenteral Drug Association，PDA）的系列技术报告 1 号《湿热灭菌程序的验证：灭菌程序的设计、开发、确认及日常监控》、30 号《采用湿热灭菌法的最终灭菌药品及医疗器械的参数放行》和 48 号《湿热灭菌设备系统：设计、试车、运行、确认和维护》[7]，欧洲 EMA 于 2019 年发布了《制剂、原料药、辅料和内包材灭菌指南》[8]等。目前，我国灭菌工艺验证的要求仍以药品生产质量管理规范（GMP）[9]和 7 号文为基础。

为促进化学药品注射剂仿制药一致性评价工作的顺利开展，结合最新的技术要求，药审中心组织起草并发布了《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则（征求意见稿）》（以下简称指导原则）[10]。本文结合该指导原则起草和修订过程，对湿热灭菌工艺研究和验证中重要的概念、关注点及新增的内容等进行阐述和讨论，旨在为业界理解和执行指导原则提供一定的帮助。

1 灭菌工艺的概述

本文重点对注射剂常用的灭菌工艺（即湿热灭菌工艺）的研究和验证进行阐述。其他无菌药品如无菌原料药、滴眼液和无菌半固体的研究和验证过程中，一定程度上可参考本指导原则，同时基于产品、剂型、工艺的特性，还会涉及其他方面的考虑。

2 湿热灭菌工艺的研究

2.1 注射剂灭菌工艺选择的决策树 见图 1。

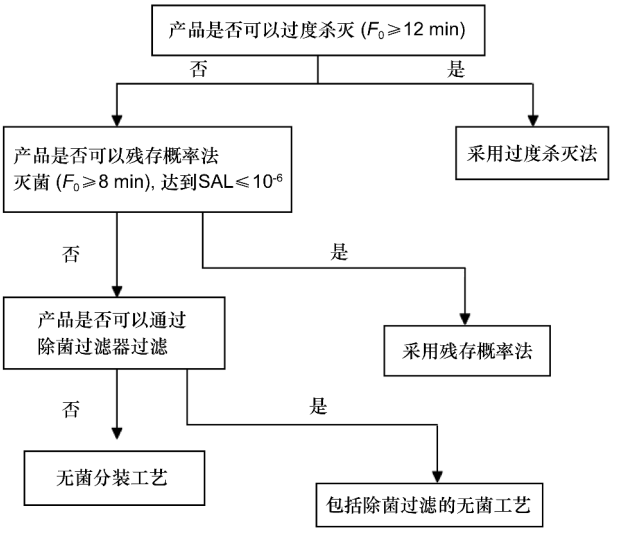


图 1 注射剂灭菌工艺选择的决策树

指导原则中注射剂灭菌工艺选择的决策树与其他国家或地区执行的决策树存在一些差异：EMA 指南的灭菌决策树将《欧洲药典》5.1.1 灭菌条件（≥121 ℃，≥15 min）作为第一个可行的选择，其次是标准灭菌时间（F_0）≥8 min 的灭菌工艺，无过度杀灭工艺的选择项。美国 FDA 指南的决策树是以过度杀灭工艺作为第一个可行的选择。PDA 的报告中过度杀灭工艺被定义为“一个被灭菌产品获得 F_{0PHY}（物理杀灭时间）和 F_{0BIO}（生物杀灭时间）至少为 12 min 的灭菌程序”，其他的灭菌程序被定义为“基于产品特性的灭菌工艺”，但是并未规定具体 F_0 值。由于我国自 7 号文实施之后，业界均已经广泛接受了 7 号文对 2 种湿热灭菌的定义，且已经过很长时间的实践，相关的研究和验证要求如果足够完善，也能够有效保证工艺的无菌保证水平，因此指导原则仍建议沿用原来的定义，仅在研究和验证要求内容上进行了调整。

EMA 的指导原则中，建议了湿热灭菌法的最低保持温度，即所有湿热灭菌工艺都要求最低保持温度为 110 ℃。通过较低的温度和较长的灭菌时间也可以获得目标 F_0 值，但可能会影响耐受性较强的污染菌的杀灭效果，无法满足无菌保证水平，因此要求进行论证。考虑到部分产品灭菌过程中无明显的保温平台期，规定最低保持温度不适用于所有产品，因此在物理确认和生物学确认均能够满足要求的条件下，基于当前的认知，没有对灭菌程序的设计做更具体的规定。

F_0 值通常从加热阶段的 100 ℃开始累积，结束于冷却阶段的 100 ℃，因为饱和蒸汽灭菌的状态是整个过程中存在液态水，而 100 ℃为水变为蒸汽的临界点[11]。PDA 的第 1 号技术报告也推荐 F_0 值开始计算温度为 100 ℃，湿热灭菌器的数据采集系统也一般设计为从 100 ℃开始计算 F_0 值，因此 F_0 值计算的起始温度实际是基于已经达成的共识。灭菌温度由 100 ℃上升至 110 ℃，该阶段时间间隔约 1 min，对 F_0 值贡献约为 0.1，对产品累计 F_0 的计算不会产生较大影响，但是更宽泛的 F_0 值积分范围对反应灭菌程序升温和降温的工艺稳定性方面是有意义的，因此不再特别界定。

目前的湿热灭菌工艺仅包括过度杀灭法和残存概率法 2 种，不包括 F_0 <8 的最终热处理工艺（即无菌工艺后最终热处理）。F_0 <8 的热处理程序为一种减弱条件的最终热处理方式，虽然能起到一定的灭菌效果，但不足以单独作为最终灭菌工艺提供符合要求的无菌保证水平，因此不进行过多讨论。

2.2 湿热灭菌工艺的选择依据 灭菌工艺的选择

一般按照灭菌工艺选择的决策树进行,湿热灭菌工艺作为一种主要的最终灭菌工艺,应优先选用。湿热灭菌方法主要包括过度杀灭法和残存概率法,具体选择哪种灭菌工艺在很大程度上取决于待灭菌产品的热稳定性。影响产品热稳定性的因素,除了与药物活性成分的化学性质相关外,还与制剂的处方工艺、包装系统等密切相关。其中包装系统的选择和设计也是影响湿热灭菌工艺条件选择和最终无菌保证水平的重要因素,在研究中应结合产品特性、包装系统的相容性以及灭菌器的灭菌原理等进行包装系统的选择和设计,并避免选用热不稳定的包装系统。在进行处方工艺、包装系统等优化的基础上,结合注射剂的稳定性数据选择合适的灭菌工艺。参照 EMA 指南,在稳定性数据评估时应关注降解杂质的研究,对于一般降解杂质不应仅因其含量超过 ICH Q3A,Q3B 指导原则[12-13]规定的限度,就排除湿热灭菌工艺而不进行论证,如果一般降解杂质经研究确证为代谢产物或其含量水平在可接受的范围内,仍推荐采用湿热灭菌工艺。随着公众对药品安全性要求的提高,致突变杂质也要作为一个考虑的因素,若降解杂质具有警示结构,应参照 ICH M7 指导原则[14]和国内外监管机构的要求进行研究,并考察灭菌温度和时间对杂质降解速率的影响,作为灭菌工艺及灭菌条件选择的重要因素之一。

随着化药药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价工作的开展,注射剂仿制药灭菌工艺的选择成为关注的热点。一般而言,在无菌保证水平不低于参比制剂的基础上,仍可以按照灭菌工艺选择的决策树进行灭菌工艺的选择。

2.3 微生物污染的监控 指导原则基于《中华人民共和国药典》2020 年版[15]对微生物污染监控的方法等进行了相应内容的完善与修订,将“微生物污染的监控”作为独立的一项内容进行了系统的阐述。指导原则明确了过度杀灭法和残存概率法对微生物污染监控要求的区别;要求微生物污染水平的监测、耐受性(D_T 值)的测定等参照《中华人民共和国药典》2020 年版相关通则进行;另外,体现了“质量源于设计”的理念,提倡在工艺设计阶段筛选有效的措施,降低灭菌前微生物污染水平,因此湿热灭菌工艺也通常会包括“降低灭菌前微生物污染的工艺设计”内容。

3 湿热灭菌工艺的验证

湿热灭菌工艺的验证一般分为物理确认和生物学确认 2 部分,物理确认包括热分布试验、热穿透试验等,生物学确认主要是微生物挑战试验。

3.1 物理确认 在物理确认时,应基于风险评估的原则,综合灭菌器的几何形状、空腔尺寸、产品装载方式以及试验确认的冷点、热点等确定温度探头的个数和安装位置,如热穿透试验时整个包装中最难灭菌的位置应安装温度探头,并通过图表或照片等方式对产品装载方式及探头放置合理性进行说明。

热分布和热穿透试验数据的分析处理应确认关键和重要的运行参数,并有相应的文件和记录。考虑到实际生产中灭菌设备、待灭菌产品的情况复杂和多样性,指导原则只推荐了需要关注的主要参数,未明确主要参数的可接受范围。实际生产中应结合灭菌条件、灭菌设备的特点以及产品的实际情况综合分析拟定运行参数的合格标准,一般根据获得的数据,综合评估整个灭菌程序的实际控制情况。

3.2 生物学确认 生物学确认时,根据待灭菌产品和灭菌工艺选择合适的生物指示剂尤为重要,随着《中华人民共和国药典》2020 年版的实施,生物指示剂的选用可以直接参照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 9207“灭菌用生物指示剂指导原则”。在使用生物指示剂时,除了对生物指示剂的主要质量参数,如总芽孢数、D_T 值和存活时间、杀灭时间等进行评估或测定外,还应对实际条件下生物指示剂的耐受性进行评估,因为生物指示剂所处的载体或溶液可能对其耐受性有影响,如嗜热脂肪地芽孢杆菌在含氯化钠或氯化钾的溶液中耐受性会增强,故要求无论是直接使用市售的生物指示剂成品,还是将生物指示剂接种到待灭菌产品中,均应考虑待灭菌产品对细菌芽孢耐受性的影响,如果待灭菌产品会使细菌芽孢的耐受性增加,应采用直接接种到待灭菌产品的方法。

生物指示剂的接种量(即灭菌前生物指示剂的初始芽孢数,N_0)的计算方法是根据相关文献[16],参照 PDA 的第 1 号技术报告确定,并要求特殊情况下,若选取灭菌后生物指示剂的存活芽孢数(N_T) < 1 计算 N_0,应提供合理性说明。进行试验结果的评价时,除了根据生物指示剂的 D_T 值、接种量外,还需结合挑战试验验证结果及产品灭菌前微生物的污染水平(耐受性及微生物污染数量)来评价产品在验证的灭菌条件下实际达到的 SAL 值。

3.3 过度杀灭法进行生物学确认的必要性 7 号文提及大容量注射剂可不进行生物学确认。EMA 指南

明确《欧洲药典》5.1.1 灭菌条件(≥121 ℃,≥15 min)不要求提供灭菌工艺验证资料。实际 EMA 指南附件 1 表中,除了特殊情况(即《欧洲药典》5.1.1 灭菌条件),其他湿热灭菌工艺(包括过度杀灭工艺),均要求提供 F_{0PHY} 和 F_{0BIO} 验证资料,即应进行物理确认和生物学确认。同时,美国 FDA 的"无菌工艺验证资料的申报要求"[17]明确要求最终灭菌工艺应进行生物学确认,证明任何一个灭菌工艺能达到 10^{-6} 或更好的无菌保证水平。对于蒸汽或热穿透困难的产品来说,仅凭物理确认获得的温度、时间或 F_0 值等数据尚不足以证明被灭菌产品已经达到灭菌要求。同时,对于产品的难灭菌部位,如注射剂的内腔、针头的保护罩或滤膜等也不能仅通过物理确认证明已经达到灭菌要求。因此,基于决策树对灭菌工艺的分级,应要求物理确认和生物学确认结果一致,两者相互确证,且不能相互替代。

3.4 基于风险评估的验证方案设计 灭菌工艺验证时,通常存在不同灭菌器(一般指相同工作和设计原理的灭菌器)、处方组成、容器规格、装量、装载方式等情况,若每种情况都进行验证需要大量的实验和昂贵的成本。从减少验证试验数量,节约验证成本方面考虑,参照欧盟及美国监管理念,指导原则增加了"基于风险评估的验证方案设计"内容。在不牺牲无菌保证水平的前提下,在风险评估的基础上,经综合考虑各方面因素且通过充分的合理性论证后,可选用具有代表性的灭菌器、待灭菌产品和装载方式等进行灭菌工艺验证,不必对所有情况进行验证,如耐热性、黏度最大产品的灭菌验证可代表低水平产品,最大、最小浓度处方产品的灭菌验证可代表中间浓度产品,最大装量的最大容器和最小装量的最小容器产品的灭菌验证可代表中等规格及中等容器的产品等。

4 总结

湿热灭菌工艺研究和验证为《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则(试行)》的重要组成部分,该指导原则在 2013 年征求意见稿的基础上,结合国内外灭菌工艺研究及验证相关法规指南的更新及国内湿热灭菌工艺的发展[18-20],对部分内容进行了修订,同时增加了一些与国际接轨的验证理念,如基于风险评估的验证方案设计等,目的为形成统一的针对化学药品注射剂灭菌工艺研究及验证的技术要求,为促进化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价的顺利开展提供技术支持。

[参 考 文 献]

[1] 原国家食品药品监督管理总局. 关于发布化学药品新注册分类申报资料要求(试行)的通告(2016 年第 80 号)[EB/OL]. (2016-05-04)[2020-12-20]. https://www.nmpa.gov.cn/yaopin/ypggtg/ypqtgg/20160504175301774.html.

[2] 国家药品监督管理局药审中心. 关于发布《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》等 3 个文件的通告(2020 年第 2 号)[EB/OL]. (2013-08-20)[2020-12-20]. http://www.cde.org.cn/news.do? method=largeInfo&id=93bd0390c42cd808.

[3] 国家药品监督管理局. 关于发布《M4:人用药物注册申请通用技术文档(CTD)》模块一文件及 CTD 中文版的通告(2019 年第 17 号)[EB/OL]. (2019-04-17)[2020-12-20]. https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20190417174001488.html.

[4] 国家药品监督管理局. 关于发布化学药品注射剂和多组分生化药注射剂基本技术要求的通知(国食药监注[2008]7 号)[EB/OL]. (2008-01-10)[2020-12-20]. https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzwj/gzwjyp/20080110120001739.html.

[5] 国家药品监督管理局药品审评中心. 灭菌/无菌工艺验证指导原则[EB/OL]. (2013-08-20)[2020-12-20]. http://www.cde.org.cn/news.do? method=largeInfo&id=72c19c77eaf07e55.

[6] 国家药品监督管理局. 关于发布除菌过滤技术及应用指南等 3 个指南的通告(2018 年第 85 号)[EB/OL]. (2018-07-31)[2020-12-20]. https://www.nmpa.gov.cn/ylqx/ylqxgg-gtg/ylqxqtgg/20180911170301439.html.

[7] 中国医药设备工程协会 译. 美国注射剂协会技术报告汇编-1 号、30 号和 48 号[M]. 北京:中国质检出版社、中国标准出版社,2019.

[8] EMA. Sterilisation of the medicinal product, active substance, excipient and primary container[EB/OL]. (2019-10-01)[2020-12-20]. https://www.ema.europa.eu/en/sterilisation-medicinal-product-active-substance-excipient-primary-container.

[9] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 药品生产质量管理规范(2010 年修订)(卫生部令第 79 号)[EB/OL]. (2011-02-12)[2020-12-20]. http://www.nhc.gov.cn/wjw/bmgz/201102/e1783dd3c9684f0cb875d71170a96d17.shtml.

[10] 国家药品监督管理局药品审评中心. 关于发布《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则(试行)》的通告(2020 年第 53 号)[EB/OL]. (2020-12-31)[2021-07-27]. http://www.cde.org.cn/news.do? method=largeInfo&id=cd41121a825d209b.

[11] 中国医药设备工程协会译. 湿热灭菌工艺的验证[M]. 北京:中国质检出版社、中国标准出版社,2019.

[12] ICH. Q3A(R2) Impurities in new drug substance[EB/OL]. (2006-10-25)[2020-12-20]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29 Guideline.pdf.

[13] ICH. Q3B(R2) Impurities in new drug products[EB/OL]. (2006-06-02)[2020-12-20]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf.

[14] ICH. M7(R1) Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk[EB/OL]. (2017-03-31)[2020-12-20]. https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 版. 北京:中国医药科技出版社,2020.

[16] 潘友文,邓海根. 灭菌工艺的基本原理与参数放行[M]. 北京:中国质检出版社、中国标准出版社,2013.

[17] FDA. For the submission of documentation for sterilization process validation in applications for human and veterinary drug products[EB/OL]. (1994-11-01)[2020-12-20]. https://www.fda.gov/media/71442/download.

[18] 胡昌勤. 药品微生物控制体系建设现状与展望[J]. 中国现代应用药学,2021,38(5):513-519.

[19] 张婷婷. 离子色谱法测定灭菌注射用水中硝酸盐含量[J]. 今日药学,2019,29(5):315-317.

[20] 冯震,肖璜,杨美成,等. 自含式压力蒸汽灭菌生物指示剂 D 值测定方法考察[J]. 中国医药工业杂志,2017,48(4):568-573.

编辑:王宇梅/接受日期:2021-05-24