·新药注册与审评技术·

胶塞/玻璃瓶容器密封完整性研究的探讨

马骏威,郭涤亮,刘　涓,刘永辉
(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要]　容器密封完整性(container closure integrity,CCI)研究是药物开发的重要组成部分。本文重点论述了胶塞/玻璃瓶容器生命周期的CCI研究,包括包装设计、产品生产、稳定性研究3个方面。对胶塞/玻璃瓶容器最大允许泄漏限度建立进行探讨。

[关键词]　胶塞/玻璃瓶;容器密封完整性;产品生命周期;最大允许泄漏限度
[中图分类号]　R95　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003-3734(2021)05-0394-05

Discussion on the container closure integrity of rubber stopper/glass container

MA Jun-wei, GUO Di-liang, LIU Juan, LIU Yong-hui
(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022, *China*)

[**Abstract**]　Research on container closure integrity (CCI) is an important part of drug development. This article focuses on the CCI research of the life cycle of the rubber stopper/glass container, including packaging design, production, and stability research, and discusses the MALL establishment of rubber stopper/glass container.

[**Key words**]　rubber stopper/glass container; container closure integrity (CCI); product life cycle; maximum allowable leakage limit (MALL)

包装完整性(package integrity)即容器密封完整性(container closure integrity,CCI),是指包装系统防止内容物损失、微生物侵入、影响产品质量的气体(氧气、空气、水蒸气等)或其他物质进入的能力[1]。所有包装都存在某种程度的泄漏,但并不是所有的泄漏都会影响药品的质量(理化特性和无菌属性),因此CCI并不是要求绝对无泄漏,而是要确保包装不存在任何影响药品质量的泄漏,即包装系统不存在超过最大允许泄漏限度(maximum allowable leakage limit,MALL)的泄漏。

确保无菌性是无菌药物的一项法规要求。无菌检查仅表明在该检验条件下供试品未发现微生物污染。无菌检查的局限性包括:① 无菌检查只能检测到在特定培养基中生长的活微生物。② 检查操作可能导致假阳性。③ 无菌检查是破坏性试验,相同样品不能进行其他检测项目。放行时产品无菌检查合格,如果稳定性放置期间出现无菌检查不合格,排除检查操作等因素,理论上都是因为CCI失败造成的。目前,FDA要求产品放行必须进行无菌检查,其他稳定性考察时间点FDA推荐采用容器密封完整性试验(container closure integrity test,CCIT)代替无菌检查。主要基于CCIT以下优点:① 可预测应包装系统破损可能导致的污染。② 使用非破坏性CCIT方法检测的样品仍可用于其他质控检测项目。③ 除微生物侵入法外,CCIT方法的检测时间较无菌检查短,且假阳性更少[2]。

本文参考USP1207论述胶塞/玻璃瓶包装系统CCI生命周期研究,并对此类包装容器的一些重要问题进行探讨。

1　产品生命周期的CCI研究

1.1　包装设计　CCI的保证源于使用良好密封性能的包材、具有适当公差尺寸相匹配的组件以及密封工艺过程的稳定控制。以确保CCI为目的,包装设计研究主要包括2项内容:① 包装组件选择。② 固有包装完整性(inherent package integrity)的

[作者简介]　马骏威,男,主要从事药品审评工作。E-mail: mjw2007@126.com。

确认。

胶塞/玻璃瓶容器由 3 个组件组成:弹性橡胶塞、玻璃瓶和铝塑组合盖。制剂生产商选择合适的组件应考虑以下方面:① 合适的供应商。② 质量标准应符合监管要求。③ 对于可能影响 CCI 的关键指标,如尺寸、形状、理化特性(如硬度)等,应建立严格内控标准。胶塞与玻璃瓶的密封主要依靠 3 个关键密封区域,即胶塞面与瓶口面贴合区、胶塞颈外壁与瓶口内壁贴合区、胶塞与瓶口倒角贴合区[3]。组件尺寸的关键指标包括:胶塞面直径、胶塞颈直径和高度等,玻璃瓶瓶口和瓶颈内外径等,铝塑组合盖凸边直径等。胶塞颈和瓶口的形状也可能因制剂工艺而不同,如冻干用玻璃瓶和胶塞可能存在反吹(blowback)的结构。中国制定了一系列药包材标准(即 YBB 标准),制剂生产商需评估现有 YBB 标准中规定的组件尺寸公差范围控制是否足够,必要时应收严。不同厂家胶塞硬度和黏弹性可能不同,铝塑组合盖硬度可能不同,这些因素都有可能影响 CCI[4]。有文献报道了胶塞硬度、黏弹性、润滑性、覆膜等对 CCI 潜在的影响[5],但 Matthew 等[6]的 DOE 研究结果表明橡胶/玻璃瓶容器的 CCI 耐用性良好,胶塞(配方、大小)、瓶(大小、类型)以及组合对包装系统 1 年内的 CCI 和残余密封力(residual sealing force,RSF)影响较小。因此,对于包材质量的要求应结合具体的 CCI 研究结果确定。

在确定包装组件后,应进行容器系统的固有包装完整性的确认。固有包装完整性是使用无缺陷包装组件组装良好的容器系统的泄漏特性。出于经济方面的考虑,早期固有包装完整性确认可以使用空的或安慰剂填充的容器系统,其优点是可以通过高灵敏和定量的 CCIT 方法对较大数量的样品进行测试,积累固有包装完整性的相关数据。最后,还需要采用最严格工艺参数条件下生产的样品确认拟定包装固有包装完整性,并结合后续药品的储存、运输、分配及使用来评估制得最终产品容器系统的耐用性[1]。

《药品生产质量管理规范》(2010 年修订)附录 1 中无菌药品规定:小瓶压塞后应尽快完成轧盖,轧盖前产品视为未完全密封状态。因此轧盖工序是胶塞/玻璃瓶容器影响 CCI 的关键步骤。固有包装完整性涵盖给定包装组件尺寸、加工和组装的预期变量等因素组合对 CCI 的影响[1],那么就胶塞/玻璃瓶容器系统的固有包装完整性而言,则需考虑各组件最大公差范围和极端轧盖工艺参数(如轧盖速度、压力等)等对 CCI 的影响。有研究通过实验设计(DOE)评估轧盖密封的 3 个关键参数对 RSF 的影响,包括压塞高度、组件的最大公差、轧盖压力。试验结果为轧盖工艺参数设定和优化提供了指导[5]。应注意,胶塞/玻璃瓶包装系统固有包装完整性的确认不仅仅涉及轧盖工序,还应该结合产品灭菌工序、贴标签、外包装等其他工序最苛刻的生产工艺参数条件进行确认。

制剂生产商积累的生产经验和工艺知识,能够加快类似包装系统设计的效率。FDA 在其《终端灭菌产品无菌性-基于问题的审查(QbR):常见问题》微生物属性部分规定:如果用于 CCI 研究中所用的包装系统和拟定商业化生产用包装系统不同,需要比较二者的异同,并说明在 CCI 研究中使用的理由,并以胶塞/玻璃瓶系统举例:如果商业化生产中使用 2 种规格的玻璃瓶(瓶颈尺寸相同)和同一种胶塞,那么只需提供一个样品瓶颈部/塞子组合 CCI 研究。同时,如果申请人在申报中定义了 CCI 的设计空间,对尺寸、组件、扭矩范围、RSF、储存条件、灭菌/除热原等工艺进行了合理论述,那么上市后在设计空间内的密封性相关变更不需要再进行补充申请的申报[7]。FDA 表达了对同一种产品使用胶塞/玻璃瓶容器的考虑,即注重组件关键密封区域的一致性。同时也表明对固有包装完整性的充分研究(即 CCI 设计空间)有利于企业上市后的包材变更管理。虽然在申报资料中并不强制要求提交固有包装完整性和设计空间研究的相关信息,但是这部分内容应该是企业在包装开发中需要考虑开展的工作。

1.2 生产期间的密封质量和外观检测 首先,生产前应对入场包材建立适当的控制,包括评估和/或审计包材生产商或供应商、制定合适的质量标准和取样计划、确认进厂包材质量、制定合适的 CAPA 程序应对超标包材。其次,生产期间应建立适当密封质量检测和外观检测控制策略。密封质量检测是一种用于描述和监控包装密封质量和工艺参数一致性的检查,是容器系统 CCI 的一种保证。密封质量检测并不是泄漏检测技术,密封质量检测不能代替 CCIT[8]。轧盖工艺的密封质量检测指标包括 RSF 和扭力矩等。RSF 用于度量轧盖后胶塞对于玻璃瓶施加应力的大小,一般小瓶轧盖越紧,RSF 值越高。RSF 检测方法是一种无破坏性的间接测量方法。另外,在轧盖设备上放置扭矩检测仪可以实现

在线检测轧盖后样品的扭力矩。持续的 RSF 和扭力矩监控可以评估整个生产期间产品密封状态的一致性。满足扭力矩和 RSF 标准的产品可能由于瓶表面的划痕而导致泄漏,因此还需要 CCIT 用于最终产品 CCI 的确认。

除生产控制外,目视检查也是保障产品 CCI 的关键质控手段。采用摄像头/LED 系统进行胶塞/玻璃瓶 100% 外观检测,可以剔除明显的组装错误,例如胶塞凸起、缺失、轧盖不合格等[9]。对包材设计研究阶段暴露的特定 CCI 问题,生产过程中应制定适当控制策略,包括选择适当的 CCIT 方法、生产中进行密封质量检测(如扭力矩和 RSF)以及增加目视检查工序等。

目前法规仅要求对熔封的产品(如玻璃安瓿或塑料安瓿)进行 100% 完整性检测。由于包装组合的复杂性,胶塞/玻璃瓶容器尚无统一成熟的 100% 在线 CCIT 方法。实际申报中也极少有企业对胶塞/玻璃瓶容器进行 100% CCIT。

1.3 稳定性考察 《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南(试行)》要求,注射剂稳定性考察初期和末期进行无菌检查,其他时间点可采用 CCIT 替代。FDA 也建议将 CCIT 纳入商业化产品的稳定性研究方案,作为无菌检测的替代选项,但这并不是强制性的。FDA 指南建议除产品放行必须进行无菌检查外,其他稳定性考察时间点可采用 CCIT 代替无菌检查,建议检验频率为每年 1 次或者按照监管要求执行[2]。经验证的 CCIT 方法,比无菌检查能更灵敏预测影响产品无菌或理化性质的泄漏。如果 CCIT 对于产品和包装是非破坏性的,那么所用样品还可以用于该稳定性时间点的其他项目检测。但是 CCIT 的样品不应延用于下一稳定性时间点的 CCIT,以排除储存条件外其他因素的干扰,如用于长期 12 个月 CCIT 的样品不应继续放置用于长期 24 个月的 CCIT。

在产品包装设计阶段,可以采用填充培养基的包装容器进行微生物挑战(mCCIT)检测,作为固有容器密封性评价的支持依据。但是对于某些样品,其内容物可能无法支持微生物生长,因此商业化产品以及稳定性期间进行 CCIT 则需要开发理化密封性(pCCIT)检测方法。商业化产品以及稳定性期间检测所用 pCCIT 检测限应不超过 MALL。

许多胶塞/玻璃瓶包装的产品是在冷冻状态下存储和运输的,特别是生物制品。一般胶塞的玻璃转化温度(Tg)在 -55 ℃ ~65 ℃[10],低温可能导致胶塞收缩和弹性降低,进而影响 CCI。因此应特别注意考察冷藏条件下外部环境变化(如真空度)对 CCI 以及关键密封参数(如 RSF 和扭矩力等)的影响。ThermCCI 方法(一种检测室可以控制低温的氦气泄漏检测方式)可以作为此类产品的 CCIT[11]。

2 CCIT 方法

CCIT 分为确定性(deterministic)和概率性(probabilistic)泄漏检测技术 2 类,常见的确定性泄漏检测方法包括高压放电、顶空气体激光分析、质谱提取、压力衰减、示踪气体检测(抽真空模式)和真空衰减等;概率性泄漏检测方法包括气泡释放法、微生物挑战、示踪气体检测(嗅探模式)、液体示踪法等,方法详细信息参照 USP1207.2 以及已有文献[12]。

不同 CCIT 方法的灵敏度、重现性、检测速度、是否破坏样品和应用范围可能不同,没有一种方法适用于所有产品包装的泄漏测试。灵敏度较高的确定性方法适用于在包装设计阶段进行包装固有包装完整性的确认,如果适用也鼓励作为产品生产和稳定性期间的 CCIT 方法。由于需要培养基,微生物侵入法一般也仅适用于包装设计阶段用于确认产品的 CCI 研究,一般不适用生产期间以及稳定性考察的 CCIT 方法。不同产品生命周期阶段的 CCIT 方法需要企业根据实际生产需求、产品特性以及工艺控制情况自行评估确定。目前国内胶塞/玻璃瓶系统常见的稳定性检测方法主要为色水法,也有企业采用真空衰减法等其他方法。

FDA 仿制药申报微生物特性部分要求:对包装系统进行简要说明,明确 CCIT 研究方法、试验结果的判断标准[7]。参照 FDA 要求,建议在中国药品注册申报中提交 CCIT 相关如下内容:① 方法和样品基本情况。② 测试样品数量。③ 微生物挑战的类型和持续时间(微生物法)。④ 施加的任何条件,例如真空、压力(如微生物法、液体示踪法)。⑤ 方法学验证信息。⑥ 如何制备和挑战阳性对照样品。最后应提供方法的结果和结论。建议申请人对 CCIT 适用性进行论述,明确所选包装容器的 MALL 以及所用 pCCIT 的检测限。

3 胶塞/玻璃瓶包装 MALL 的建立的讨论

USP1207 中说明刚性容器如规定最大允许泄漏限度为 6×10^{-6} mbar·L·s^{-1}(真空模式氦气泄漏检测法),即相当于直径介于 0.1 ~0.3 μm 的孔。选

择这个保守的 MALL 可确保较低风险的微生物侵入及液体泄漏,即不需采用 mCCIT 或液体挑战研究进行 MALL 的确认[1]。但是需要注意的是,这里的 0.1 ~ 0.3 μm 的孔径,仅仅是针对微生物侵入风险而言不需要进行 MALL 确认,如果产品需要顶空环境的保护,那么还是需要确定针对顶空环境的其他指标的 MALL。

USP1207 中对其他容器系统泄漏和微生物侵入或液体进入的风险并未达成共识,例如柔性材料或具有复杂封闭/密封接触面的包装系统。在这种情况下,探索泄漏尺寸/类型与微生物侵入和/或液体进入风险之间的关系就非常有意义。研究结果可用于为给定的产品-包装系统建立有意义的 MALL,并作为 CCIT 方法选择的依据[1]。

因此对于常规的无菌制剂,对于检测方法灵敏度高于 0.3 μm 或者包装本身泄漏孔径显著大于 0.3 μm 的,应进行密封性研究建立针对该容器系统不同生命周期阶段的 MALL。文献中已有很多采用 mCCIT 方法研究建立胶塞/玻璃瓶包装的 MALL 的报道。表 1 汇总了胶塞/玻璃瓶系统 MALL 研究相关文献研究。文献研究均以微生物侵入为指标,采用一定数量和类型的阳性对照样品建立胶塞/玻璃瓶包装的 MALL,同时建立了示踪气体氦气(真空模式)与 mCCIT 的关联。MALL 建立所用的阳性样品不仅仅涉及泄漏孔径尺寸,还包括泄漏类型(如采用不同直径铜线的压线法阳性样品)。

表 1 胶塞/玻璃瓶系统 MALL 研究的相关文献

CCIT	检测器	MALL 值	MALL 研究方法	阳性对照及数量	参考文献
示踪气体氦气(真空模式)	MS 检测泄漏	10^{-7} mbar L·s^{-1}	与 mCCIT 关联确定	胶塞和瓶间压不同直径的铜线,15 只	[13]
微生物侵入法(气溶胶)	微生物检查	5 μm	微生物侵入与真空大小明显正相关,24 ~ 27 kPa 下,5 μm 微生物侵入比例 30%	插管(5,10,20 μm),各 42 个样品	[14]
示踪气体氦气(真空模式)	MS 检测泄漏	10^{-7} mbar L·s^{-1},对应 20 μm 铜线	与 mCCIT 关联确定	胶塞和瓶间压铜线(20 和 60 μm),各 10 只	[15]
示踪气体氦气(真空模式)	MS 检测泄漏	1.3×10^{-5} mbar L·s^{-1},对应 15 μm 细铜线;1.4×10^{-3} mbar L·s^{-1},对应 2 μm 微孔	与 mCCIT 关联确定	2 μm 激光打孔,或者压细铜线	[16]
示踪气体氦气(真空模式)	MS 检测泄漏	低于 $10^{-4.5}$ std cc·s^{-1},对应 2 μm 孔径,微生物侵入风险低于 10%;10^{-5} ~ $10^{-5.8}$ std cc·s^{-1},对应 0.2 ~ 0.3 μm 孔径,微生物无侵入	与 mCCIT 关联确定	0.1 ~ 10 μm 玻璃瓶插管,数量未明确	[17]

此外,还有文献报道了产品不同生命周期阶段 MALL 可能不同。采用气溶胶微生物法确定 EVA 膜和 PE 膜包材的 MALL,阳性对照为不同孔径的插管样品。研究者采用 0 和 300 mbar 侵入压力模拟实际储存和运输期间可能的外界真空度变化,最终采用概率统计的方法确定储存期间 MALL 为 10 ~ 20 μm,运输条件下 MALL 为 2 ~ 10 μm[18]。需要强调的是,mCCIT 采用不同的测试条件,试验结果可能会完全不同。当采用较大的真空度促进微生物侵入时,MALL 值则明显偏低。

4 小结

产品放行后,CCI 是保证贮存期间产品质量的关键因素。CCI 的研究应贯穿整个产品生命周期,确保最终患者使用产品的质量与安全。决定胶塞/玻璃瓶系统 CCI 良好与否的关键阶段主要是产品包装设计以及生产阶段轧盖控制。不同生命周期阶段的样品,根据控制需求可能需要建立包括 pCCIT、mCCIT、目检、密封质量测试多种技术手段保证产品的 CCI。

对于不能良好支持微生物生长的产品,mCCIT 不适用稳定性阶段 CCIT。因此在包装设计等早期阶段研究 mCCIT 和 pCCIT 关联以确定 MALL 则尤为重要。现有胶塞/玻璃瓶系统 MALL 确认的研究有限,在无菌性方面 MALL 确认的基本思路都是以微生物侵入阳性样品的泄露类型和尺寸为标准,根据这个标准与 pCCIT 建立关联。由于试验方法条

件、阳性样品泄露类型和尺寸、样品数量、统计分析方法不同，不同胶塞/玻璃瓶系统 MALL 的确认结果可能存在差异。对于相同或者组件关键密封区域的一致的胶塞/玻璃瓶系统，其已有 CCI 经验有助于产品的后续研究。

[参 考 文 献]

[1] The U. S. Pharmacopeia 43 General Chapter 1207. Sterile Product Packaging-Integrity Evaluation[S]. 2020.

[2] FDA. FDA Guidance for Industry, Container Closure System Integrity Testing in Lieu of Sterility Testing as a Component of the Stability Protocol for Sterile Products[S]. 2008.

[3] MORTON DK. Container/closure integrity of parenteral vials [J]. *J Parenter Sci Technol*, 1987, 41(5): 145 - 158.

[4] 田耀华. 对玻璃瓶轧盖密封性用扭力矩检查方法的探讨[J]. 机电信息, 2014 (26): 18 - 20.

[5] DEGRAZIO FL. Holistic considerations in optimizing a sterile product package to ensure container closure integrity[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2018, 72(1): 15 - 34.

[6] GEHRMANN MR, MCANDREW TP. Long-term study of container closure integrity of rubber-glass vial systems by multiple methods[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2020, 74(1): 147 - 161.

[7] FDA. Question-based Review (QbR) for Sterility Assurance of Terminally Sterilized Products: Frequently Asked Questions[S]. 2011.

[8] The U. S. Pharmacopeia 43 General Chapter 1207. 3. Package Seal Quality Test Technologies[S]. 2020.

[9] EWAN S, JIANG M, STEVENSON C, *et al*. White paper: container closure integrity control versus integrity testing during routine manufacturing[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2015, 69(3):461 - 465.

[10] Freeze-drying/lyophilization of pharmaceutical and biological products[M]. CRC Press, 2016.

[11] NIETO A, ROEHL H, ADLER M, *et al*. Evaluation of container closure system integrity for storage of frozen drug products: impact of capping force and transportation[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2018, 72(6): 544 - 552.

[12] 封二飞. 无菌药品包装完整性研究[J]. 中国医药工业杂志, 2019, 50 (11): 1352 - 1357.

[13] MATHAES R, MAHLER HC, ROGGO Y, *et al*. Impact of vial capping on residual seal force and container closure integrity[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2016, 70(1): 12 - 29.

[14] KELLER S, MARCY J, BLAKISTONE B, *et al*. Effect of microorganism characteristics on leak size critical to predicting package sterility[J]. *J Food Prot*, 2003, 66(9): 1716 - 1719.

[15] NIETO A, ROEHL H, BROWN H, *et al*. Evaluation of container closure system integrity for frozen storage drug products[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2016, 70(2): 120 - 133.

[16] MORRICAL BD, GOVERDE M, GRAUSSE J, *et al*. Leak testing in parenteral packaging: establishment of direct correlation between helium leak rate measurements and microbial ingress for two different leak types[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2007, 61(4): 226 - 236.

[17] KIRSCH LE, NGUYEN L, MOECKLY CS, *et al*. Pharmaceutical container/closure integrity II: The relationship between microbial ingress and helium leak rates in rubber-stoppered glass vials[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 1997, 51(5): 195 - 202.

[18] ALIASKARISOHI S, HOGREVE M, LANGLOIS C, *et al*. Single-use container closure integrity I: using microbial ingress test method to determine the maximum allowable leakage limit (MALL)[J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2019,74(3): 1 - 20.

编辑：王宇梅/接受日期：2020 - 12 - 29