溶液型滴眼剂仿制药研发和评价的一般考虑

General Consideration on the Development and Evaluation of Generic Formulations of Ophthalmic Solutions

王家强，李珊珊，谢　琰，申丽先

（国家药品监督管理局药品审评中心，北京 100076）

WANG Jiaqiang, LI Shanshan, XIE Yan, SHEN Lixian

(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100076*)

摘要：随着我国化学仿制药一致性评价以及口服固体制剂和注射剂品种国家药品集中带量采购工作的推进，近年来不少企业将眼用制剂列为战略重点，尤其是溶液型滴眼剂。近年来大量溶液型滴眼剂仿制药注册申报上市，文章参考《化学药品仿制药溶液型滴眼剂药学研究技术指导原则》，结合溶液型滴眼剂仿制药的研究特点及多年来在溶液型滴眼剂方面的审评经验，从规格与装量、处方、生产工艺、原辅料和包材、质量研究、稳定性等方面，对溶液型滴眼剂仿制药开发研究及生产过程中药学方面的要求进行了阐述和探讨，以期为其研发和申报提供一定参考。

关键词：溶液型滴眼剂；仿制药；研发；评价

中图分类号：R95　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)01-0125-05

引用：王家强 , 李珊珊 , 谢　琰 , 等．溶液型滴眼剂仿制药研发和评价的一般考虑 [J]．中国医药工业杂志 , 2025, 56(1) : 125-129．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.01.015

随着我国化学仿制药一致性评价以及口服固体制剂和注射剂国家药品集中带量采购工作的推进，近年来不少企业将眼用制剂列为战略重点，尤其是溶液型滴眼剂。眼用制剂是指直接用于眼部并发挥治疗作用的无菌制剂。其中，滴眼剂是指由原料药物与适宜辅料制成的滴入眼内的无菌液体制剂，分为溶液、混悬液和乳状液。

1　我国溶液型滴眼剂仿制药的注册申报现状

2023 年 2 月，药品审评中心（Center for Drug Evaluation，CDE）发布了《化学药品仿制药溶液型滴眼剂药学研究技术指导原则》[1]（以下简称《指导原则》），从处方、生产工艺、原料药及辅料的质量控制、包装材料和容器、质量研究和控制、稳定性等方面，对溶液型滴眼剂仿制药开发研究及生产过程中药学方面的要求进行了阐述，结合溶液型滴眼剂仿制药的研究特点，提出了该类仿制药开发过程中药学研究的技术要求，旨在为其研发提供技术指导，满足企业和监管部门需求。

近年来，已有不少溶液型滴眼剂仿制药注册申报上市。根据 CDE 官网（https://www.cde.org.cn/）上近 3 年公开的国内滴眼液申报信息，以“滴眼液”为关键词进行检索。结果显示，2021、2022 和 2023 年的受理数量分别为 54、107 和 189 个，而 2024 年 1 月 1 日至 7 月 31 日，受理数量已达 114 个；申报的药品类型均为“化药”，申请类型均为“仿制 & 已有国家标准”。由此可见，滴眼液申报受理数量呈逐年上升的趋势。

本文参考《指导原则》，针对溶液型滴眼剂仿制药研发和评价中常见的药学问题进行探讨，以期为该类型仿制药的研发和申报提供一定的参考。

2　常见药学问题的注意点

2.1　规格与装量

《指导原则》中建议，仿制药的规格与装量原则上应与参比制剂保持一致。例如，参比制剂为多

收稿日期：2024-08-09

作者简介：王家强（1983—），男，主管药师，审评员，从事药品审评工作。

E-mail：wangjq@cde.org.cn

剂量产品，在研发单剂量仿制药时，应结合产品适应证、用法用量等，对单剂量包装的合理性进行分析。另外，单剂量滴眼剂仅限单次使用，考虑到产品的成本和临床使用需求，通常不推荐 0.8 mL、1.0 mL 等较大装量。

对于同一药品上市许可持有人的同一产品，不推荐申报 2 个及以上单剂量规格的产品。

2.2 处方

《指导原则》中建议，仿制药中的活性成分浓度应与参比制剂保持一致，辅料的种类和用量也应与参比制剂一致。在仿制药处方开发时，通常会基于参比制剂的说明书、专利、逆向工程研究等，结合参比制剂的关键质量属性，确定辅料种类。另外，应关注辅料型号，一般情况下应采用与参比制剂相同的辅料型号，并通过合适的理化手段对辅料用量进行解析和筛选。

对于渗透压调节剂、缓冲剂和 pH 调节剂的用量，仿制药可与参比制剂不同，但需标注不同之处，并阐述理由及研究证明，表示上述不同不影响申请产品的质量属性、安全性和有效性。多剂量滴眼剂处方中一般含有抑菌剂，用量应按照 ChP 四部通则 1121 抑菌效力检查法进行筛选，并提供抑菌效力试验结果。对于单剂量滴眼剂，由于其仅限单次使用，原则上处方中无需添加抑菌剂。

2.3 生产工艺

滴眼剂的常用内包材为低密度聚乙烯瓶，因该包材无法耐受终端灭菌，大部分溶液型滴眼剂采用除菌过滤工艺生产。工艺过程一般包括包材的前处理、原辅料溶液配制、除菌过滤、灌装、检漏、灯检、包装等工序。

①包材的前处理。产品包材，尤其是多剂量产品的包材，应采用合理的方法进行清洁和灭菌，以保证包材无菌。

②原辅料溶液配制。即原辅料的溶解，在工艺开发过程中应关注原辅料加入顺序、溶解温度、搅拌速率及时间、溶液配制时的 pH 值等关键工艺参数。另外，还需考察配制过程对原料药稳定性的影响，光敏性药物是否需避光，以及对氧气敏感的药物是否需采用氮气保护等。

③除菌过滤。可参考《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）》[2]，对除菌过滤参数如滤芯选择、过滤压力、滤芯完整性等进行研究。同时，应关注药液配制后至过滤前的存放时限，以及过滤后至灌装前的存放时限等。

④灌装工序。应关注灌装压力和灌装时限，并结合工艺验证等拟定合理的灌装时限范围。对于单剂量包装产品，若采用吹灌封一体化技术生产，应关注工艺中的加热挤出温度、吹瓶时间、吹气压力、封口时间等参数。

⑤检漏工序。单剂量包装产品在生产过程中，通常要采用 100％检漏方式对产品进行检漏。例如，真空检漏法、高压放电检漏法等。多剂量产品，可选择色水法、真空检漏法、高压放电检漏法等合适的检漏方式进行产品密封性考察。

溶液型滴眼剂通常将除菌过滤前药液作为中间体进行控制。除常规控制项目外，由于无菌工艺中无菌保障水平存在的风险，一般应将微生物负荷纳入中间体质量标准。对于采用除菌过滤工艺生产的溶液型滴眼剂，除连续 3 批产品的工艺验证外，一般还要进行无菌工艺模拟验证和除菌过滤验证，具体可参考 NMPA 发布的《除菌过滤技术及应用指南》[3—4] 进行研究和验证。对于生产中所用的除菌滤芯，建议单次使用。另外，在生产工艺开发中，通常应对药液与生产组件的相容性进行研究[5]，以确认生产组件适用于产品的生产。

2.4 原料药、辅料和包材

2.4.1 原料药

原料药通常可参考供应商质量标准、国内外药典等，拟定合理的内控标准。必要时，应结合原料药的合成路线，参考 ICH Q3A《新原料药中的杂质》(Impurity in New Drug Substances)[6] 等指导原则，对原料药的杂质谱等进行分析，拟定合理的杂质控制限度。

为满足滴眼剂工艺和质量的控制要求，内控标准中应增加微生物限度控制项。对于高分子药物，如玻璃酸钠、聚乙烯醇等，应特别关注相对分子质量与分子量分布、黏度等控制项，并应考虑将其纳

入原料药内控标准。

2.4.2 辅料

根据滴眼剂的质量要求，制定合理的辅料内控标准。一般情况下，辅料的内控标准应符合现行ChP要求，同时应关注微生物限度控制项。

2.4.3 包材

溶液型滴眼剂仿制药，可根据参比制剂所用包材和产品特点选择合适的包装材料。通常所选择的内包材在对产品保护性和功能性方面的要求，应不低于参比制剂所用的包材。

包材的相容性，可参考《化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则（试行）》[7]、《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）》[8]等相关技术指导原则开展研究。应考察滴眼剂瓶所用标签（含胶水）、油墨与药液的相容性，并提供相应的相容性研究资料。

包材的密封性，可参考《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南（试行）》[5]开展研究。密封性检查方法需用适当的方法学验证，重点关注方法灵敏度，建议至少采用2种方法（其中1种推荐采用微生物挑战法），并对2种方法的灵敏度进行比较研究。原则上，拟定的商业化生产中的密封性检查方法的灵敏度，应不低于微生物挑战法。

2.5 质量研究

通常，滴眼剂的质量属性包括性状、鉴别、溶液澄清度、溶液颜色、渗透压摩尔浓度、pH值、黏度（如适用）、相对密度（如适用）、可见异物、不溶性微粒、有关物质、元素杂质、无菌、抑菌剂含量、抗氧剂含量、滴出量、相对分子质量与分子量分布（如适用）、含量、装量/装量差异、缓冲容量（如适用）等。

对于性状、鉴别、溶液澄清度、溶液颜色、渗透压摩尔浓度、pH值、相对密度（如适用）、可见异物、无菌、装量/装量差异、缓冲容量（如适用）等项，可参考现行ChP通则等，并结合多批次参比制剂的测定结果等，拟定合理的方法和限度。以下对其他项目进行讨论。

2.5.1 杂质

滴眼剂中的杂质包括有机杂质（降解产物和异构体）、致突变杂质（尤其是亚硝胺杂质）、元素杂质等。

①降解产物和异构体，可参考ICH Q3B《新药制剂中的杂质》(Impurities in New Drug Products)[9]等指导原则进行研究，尤其是制剂降解产物，应结合国内外药典、参比制剂中杂质的检测结果等，拟定合理的控制策略。

②致突变杂质，可参考ICH M7《评估和控制药物中的DNA反应性（致突变）杂质以限制潜在的致癌风险》[(Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk)][10]进行研究，结合原辅料及制剂生产工艺、制剂降解途径、产品实际检测结果等，拟定合理的控制策略。

亚硝胺杂质是近年来杂质研究关注的重点。2024年5月，EMA发布了《面向上市许可持有人/申请人关于欧盟第726/2004号法规第5(3)条有关人用药品中亚硝胺杂质推荐的CHMP意见的问答》(Questions and Answers for Marketing Authorization Holders/Applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 Referral on Nitrosamine Impurities in Human Medicinal Products)，其中《附件1：确定*N*-亚硝胺可接受的摄入量》(Appendix 1： Acceptable Intakes Established for *N*-Nitrosamines)[11]建议对左氧氟沙星、盐酸莫西沙星中的亚硝胺杂质进行研究。因此，左氧氟沙星滴眼液、盐酸莫西沙星滴眼液等品种可参考《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则（试行）》[12]等对相关的亚硝胺杂质进行研究。

③元素杂质，可参考ICH Q3D《元素杂质指导原则》(Guideline for Elemental Impurities)[13]进行研究，结合研究结果拟定合理的控制策略。

2.5.2 黏度

含有增稠剂的滴眼剂，或是高分子溶液型滴眼剂，应进行滴眼剂黏度的研究，并建议将黏度纳入质量标准。例如，《日本药局方》第18版在玻璃酸钠滴眼液品种项下收录了黏度检查项。

2.5.3 不溶性微粒

ChP 2020年版中对于溶液型滴眼剂未要求进行

不溶性微粒检查，但《日本药局方》第18版附录6.08收录了溶液型滴眼剂不溶性微粒检查法，可参考该方法进行研究。

2.5.4 抑菌剂与抗氧剂含量

若处方中添加了抑菌剂、抗氧剂等，则应对其含量进行定量检查，考虑将其订入质量标准，并在整个货架期（稳定性研究）进行考察，结合货架期检测结果，拟定合理的控制限度。

2.5.5 滴出量

眼睛对于溶液型滴眼剂的容量有限，过高的滴出量会造成药物浪费，过低的滴出量可能影响药物疗效。2023年12月，FDA发布的《局部用滴眼剂的质量考虑》草案[14]中建议，仿制药每滴的滴出量应在参比制剂滴出量的±10%范围内，且每滴的滴出量应为20～70 μL。

2.5.6 相对分子质量与分子量分布

高分子滴眼剂如玻璃酸钠滴眼液、聚乙烯醇滴眼液等，主成分的相对分子质量与分子量分布属于关键质量属性，应对其进行研究，并纳入质量标准。

2.6 稳定性

稳定性试验，应结合包材的特点（如半透性包材）和参比制剂的贮存条件设计试验。在稳定性考察期间，除一般质量研究项目外，还应对抑菌剂含量、抗氧剂含量、失水率等进行考察。稳定性试验样品应包括正置和倒置（或平放）2种放置方式。在低温下可能不稳定的滴眼剂，还应进行低温试验或冻融试验。

多剂量滴眼剂还应考察其使用中的稳定性。ChP 2020年版四部通则0105眼用制剂中规定，眼用制剂在开启后最多可使用4周。因此，应包含至少4周的稳定性数据。

3 结语

对于眼科疾病，局部给药具有起效迅速、无痛、不良反应小的优点；局部给药宜首选易于使用且患者依从性好的剂型，如具有生理相容pH值和渗透压的滴眼剂[15]。溶液型滴眼剂为滴眼剂类制剂中申报数量最多的剂型，该类仿制药的研发在参考指导原则的同时，应结合仿制药研发的一般特点和要求，及选定的参比制剂和具体品种情况，制定合理的开发和研究策略。

本文在国内外指导原则基础上，结合审评经验，对近年来溶液型滴眼剂研发和申报中常见的药学问题进行了探讨，以期进一步提升溶液型滴眼剂的研发水平，并促进其研发及申报上市。

参考文献：

[1] 国家药品监督管理局药品审评中心．国家药监局药审中心关于发布《化学药品仿制药溶液型滴眼剂药学研究技术指导原则》的通告[EB/OL]．(2023-02-06)[2024-06-16]．https://www．cde．org．cn/main/news/viewInfoCommon/4a37370c92e2711fa80a3689700d79．

[2] 国家药品监督管理局药品审评中心．国家药监局药审中心关于发布《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[EB/OL]．(2020-12-30)[2024-06-16]．https://www．cde．org．cn/main/news/viewInfoCommon/8a1c258dea8798a6c6d6c1e0a14d1c1f.

[3] 国家药品监督管理局．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[EB/OL]．(2018-07-31)[2024-06-16]．https://www．nmpa．gov．cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20180911170301439．html．

[4] 国家药品监督管理局．无菌工艺模拟试验指南（无菌制剂）[EB/OL]．(2018-07-31)[2024-06-16]．https://www．nmpa．gov．cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20180911170301439．html．

[5] 国家药品监督管理局药品审评中心．国家药监局药审中心关于发布《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南（试行）》和《化学药品注射剂生产所用的塑料组件系统相容性研究技术指南（试行）》的通告[EB/OL]．(2020-10-21)[2024-06-16]．https://www．cde．org．cn/main/news/viewInfoCommon/8a4f9f16844fbed617f8e8ed59485c1d．

[6] ICH．Q3A(R2)：Impurity in new drug substances[EB/OL]．(2006-10-25)[2024-06-16]．https://database．ich．org/sites/default/files/Q3A％ 28R2％ 29％ 20Guideline．pdf．

[7] 国家药品监督管理局药品审评中心．化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则[EB/OL]．(2012-09-07)[2024-06-16]．https://www．cde．org．cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=fbc01fac96fd70010b5d5002f544cc01．

[8] 国家药品监督管理局药品审评中心．化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）[EB/OL]．

(2018-04-26)[2024-06-16]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=a38135d-fe72524a15d357e060f2b82d4.

[9] ICH. Q3B(R2): impurities in new drug products [EB/OL]. (2006-06-02)[2024-06-16]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf.

[10] ICH. M7(R2): assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk [EB/OL]. (2023-04-03)[2024-06-16]. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf.

[11] EMA. Appendix 1: acceptable intakes established for *N*-nitrosamines [EB/OL]. [2024-06-16]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/appendix-1-acceptable-intakes-established-n-nitrosamines_en.xlsx.

[12] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《化学药物中亚硝胺类杂质研究技术指导原则(试行)》的通告[EB/OL]. (2020-05-08)[2024-06-16]. https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/776b663787ec5a60ac744071c3714d5a.

[13] ICH. Q3D(R2): guideline for elemental impurities [EB/OL]. (2022-04-26)[2024-06-16]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf.

[14] FDA. Quality Considerations for Topical Ophthalmic Drug Products [EB/OL]. [2024-06-16]. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/quality-considerations-topical-ophthalmic-drug-products.

[15] 易 婷, 赵 雁, 陶 涛. 混悬型滴眼剂的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2020, **51**(6): 679-686.

中间药液生物负载监测中检验量选择的风险研究

A Risk Study on Selecting Sample Volume in the In-process Drug Solution Bioburden Monitoring

王杠杠，王似锦，马仕洪 *

（中国食品药品检定研究院，北京　100050）

WANG Ganggang, WANG Sijin, MA Shihong*

(*National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050*)

摘要：中间药液生物负载监测是无菌药品微生物污染控制策略中非常重要的一部分。该文以除菌过滤前药液为例，基于泊松分布、负二项分布建立数据模型，模拟不同检验量情况下生物负载监测的合格判断概率，并分析检验量对误判概率的影响。结果显示，当除菌过滤前药液生物负载水平为每 100 mL 5 cfu 时，基于泊松分布和负二项分布计算检验量为 10 mL 时的误判概率分别为 9.02%、11.61%，分别是检验量为 100 mL 时误判概率的 6.58 倍、1.96 倍；当除菌过滤前药液生物负载水平为每 100 mL 20 cfu 时，基于泊松分布和负二项分布计算检验量为 10 mL 时的误判概率分别为 40.60%、50.00%，分别是检验量为 100 mL 时误判概率的 37.59 倍、10.12 倍。风险边界为 5%时，基于泊松分布，检验量为 10 mL 时的误判区间为每 100 mL 3 ～ 48 cfu；检验量为 100 mL 时的误判区间为每 100 mL 6 ～ 17 cfu。检验量较大时，结果误判的概率较低，在相同的风险边界下，判为合格药液的最大可能生物负载较低，对下游工艺的挑战性较小。

关键词：过程控制；生物负载；检验量；风险管理

中图分类号：R95；TQ460.7　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2025)01-0130-06

引用：王杠杠 , 王似锦 , 马仕洪．中间药液生物负载监测中检验量选择的风险研究 [J]．中国医药工业杂志 , 2025, 56(1) : 130-135．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.01.016

生产过程中的微生物监控对于确保药品的质量安全至关重要。尤其对于无菌药品而言，无论是除菌过滤工艺还是最终灭菌工艺，除菌过滤前或灭菌前药液的生物负载监控是微生物污染控制策略的必要组成部分，需要建立合理的监控方案以降低药品的微生物污染风险 [1]。国内外的法规标准 [2—4] 均对过滤前或灭菌前药液的生物负载有一定要求，除菌过滤前药液的生物负载一般不大于每 100 mL 10 cfu，最终湿热灭菌前药液的生物负载一般不大于每 100 mL 100 cfu。生物负载超标可能会对下游的除菌或灭菌工艺形成挑战，影响药品的无菌保证水平。

收稿日期：2024-04-30

基金项目：中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金项目（2022A7）

作者简介：王杠杠（1993—），女，硕士，从事药品微生物检验与控制研究。

通信作者：马仕洪（1972—），男，主任药师，硕士生导师，从事药品微生物检验与控制研究。

E-mail：mash@nifdc.org.cn

虽然法规中已有相关标准，但在实际监测过程中，由于微生物计数结果的可变性，当实际药液的生物负载与标准相当时，计数结果可能会超出标准限值 [5]。一方面，当菌落计数数值较低时，计数结果的相对标准偏差较大，很难准确估计药液的生物负载 [6]；另一方面，微生物在药液中可能分布不均匀，理解生物负载的监测结果时需考虑微生物的分布特点。因此，检验量会影响中间药液生物负载监测结果的准确性。当微生物在药液中均匀分布时，单位体积药液中微生物的分布服从泊松分布模型 [7]。但在实际情况下，药液中微生物的分布通常不均匀，低负载水平时，以负二项分布模型描述微生物在药液的分布情况更为恰当 [8]。

本研究以除菌过滤前药液为例，以泊松分布、负二项分布为基础建立数据模型，模拟不同检验量情况下生物负载监测结果的判定风险，以期从风险管理角度选择恰当的检验量。

1 模型选择与风险定义

1.1 模型选择

以泊松分布、负二项分布作为本研究的模型建立基础。

泊松分布的概率分布函数如式①所示，负二项分布的概率分布函数如式②所示。

$$P(x|\lambda)=\frac{e^{-\lambda}\lambda^{x}}{x!} \quad ①$$

$$P(x|\lambda,k)=\frac{\Gamma(\frac{1}{k}+x)(k\lambda)^{x}}{x!\Gamma(\frac{1}{k})(1+k\lambda)^{\frac{1}{k}+x}} \quad ②$$

式中：λ 为该分布的均值；k 为离散系数；负二项分布模型的离散程度可由其方差和均值的比值 $1+k\lambda$ 表示，本研究设定该比值为 2。

1.2 风险定义

假设药液中所有微生物细胞均可以形成单一菌落，基于模型建立需求，定义以下参数：V—检验量（单位：mL）；D—药液的生物负载水平（即每 100 mL 菌落计数）；AL—计数的可接受标准（单位：cfu），超出该限值则认为不合格；X—当检验量为 V 时的菌落计数结果（单位：cfu）。其中，$DV=\lambda$。药液检测结果为合格的概率（AP）如式③所示。

$$AP=Pr[X\leqslant AL|D] \quad ③$$

在确定的统计学分布基础上，设定参数 V、D、AL。针对除菌过滤前药液，限度标准为每 100 mL 10 cfu，AL=(10 cfu/100 mL)×V。根据泊松分布、负二项分布的概率分布函数计算在每 100 mL 药液中的菌落数≤ 50 cfu 的情况下，V=10、30、50、100 mL 时药液被判为合格的概率，并根据计算结果作图，评估发生误判的风险。

2 数据模拟与风险分析

2.1 基于泊松分布模型的模拟结果

假设药液中微生物的分布服从泊松分布模型，当检验量为 10、30、50、100 mL 时，D 与 AP 之间的关系如图 1 所示。随药液生物负载水平的升高，药液被判断为合格的概率降低，但检验量不同时，变化趋势不同。各检验量下所得趋势线的交叉点在每 100 mL 药液菌落数为 10 cfu 附近；当 D 接近 0 时，各检验量条件下 AP 均接近 100%；当 D 无限增大时，各检验量条件下 AP 均接近 0。

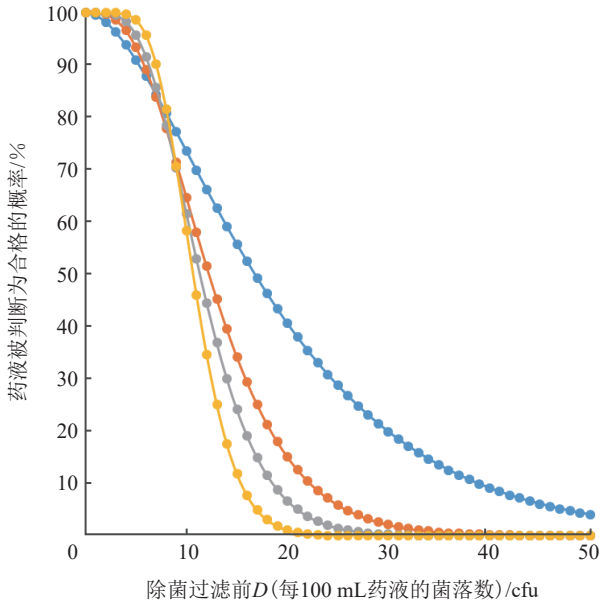


图 1 基于泊松分布时检验量（V）对结果合格概率（AP）的影响

Fig.1 Effect of Sample Volume (V) on Probability of Acceptable Result (AP), Based on Poisson Distribution

当每 100 mL 药液的菌落数分别为 1、5、15、20 cfu 时，药液被判为合格的概率和不合格的概率如表 1 所示。以每 100 mL 药液的菌落数为 5 cfu 的数据为例，在检验量为 10 mL 的情况下，误判概率为 9.02%，是检验量为 100 mL 时误判概率的 6.58 倍。

表 1 基于泊松分布时不同检验量条件下的判断概率/%

Tab.1 Probability Judgments under Different Sample Volume Conditions, Based on Poisson Distribution/%

检验量（V）/mL	判断结果	D（每 100 mL 菌落计数）			
		1 cfu	5 cfu	15 cfu	20 cfu
10	合格	99.53	90.98	55.78	40.60
	不合格	0.47	9.02	44.22	59.40
30	合格	99.97	93.44	34.23	15.12
	不合格	0.03	6.56	65.77	84.88
50	合格	100.00	95.80	24.14	6.71
	不合格	0	4.20	75.86	93.29
100	合格	100.00	98.63	11.85	1.08
	不合格	0	1.37	88.15	98.92

2.2 基于负二项分布模型的模拟结果

假设药液中微生物的分布服从负二项分布模型，当检验量为 10、30、50、100 mL 时，D 与 AP 之间

的关系如图 2 所示。随药液生物负载水平升高，药液被判断为合格的概率降低。各检验量下所得趋势线的交叉点也在每 100 mL 药液菌落数为 10 cfu 附近；当 *D* 接近 0 时，各检验量条件下 *AP* 均接近 100%；当 *D* 无限增大时，各检验量条件下 *AP* 均接近 0。

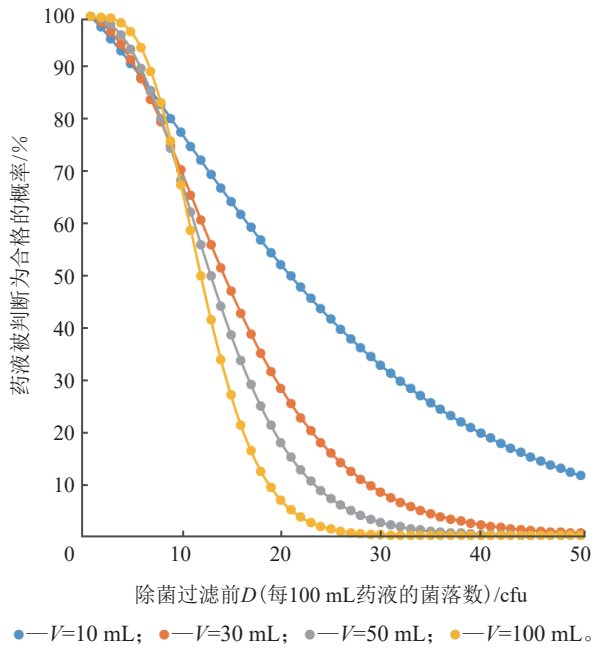


图 2　基于负二项分布时检验量（*V*）对结果合格概率（*AP*）的影响

Fig.2　Effect of Sample Volume (*V*) on Probability of Acceptable Result (*AP*), Based on Negative Binomial Distribution

当每 100 mL 药液的菌落数分别为 1、5、15、20 cfu 时，药液被判为合格的概率和不合格的概率如表 2 所示。以每 100 mL 药液的菌落数为 5 cfu 的数据为例，在检验量为 10 mL 的情况下，误判的概率为 11.61%，是检验量为 100 mL 时误判概率的 1.96 倍。

2.3　风险分析

当每 100 mL 药液的菌落数≤ 10 cfu 时，判断结果为药液合格的结论为正确，反之则为误判，此时结果误判概率为 1 - *AP*；当每 100 mL 药液的菌落数 > 10 cfu 时，判断结果为药液不合格的结论为正确，反之则为误判，此时结果误判概率为 *AP*。依据上述原则可获得微生物计数在服从泊松分布、负二项分布规律时，不同检验量情况下发生误判的概率趋势，如图 3 所示。

表 2　基于负二项分布时不同检验量条件下的判断概率 /%

Tab.2　Probability Judgments under Different Sample Volume Conditions, Based on Negative Binomial Distribution/%

检验量（*V*）/mL	判断结果	*D*（每 100 mL 菌落计数）			
		1 cfu	5 cfu	15 cfu	20 cfu
10	合格	97.97	88.39	61.87	50.00
	不合格	2.03	11.61	38.13	50.00
30	合格	98.89	88.11	42.85	25.39
	不合格	1.11	11.89	57.15	74.61
50	合格	99.53	90.06	33.66	15.09
	不合格	0.47	9.94	66.34	84.91
100	合格	99.95	94.08	21.22	4.94
	不合格	0.05	5.92	78.78	95.06

由图 3 可见，微生物分布不论是服从泊松分布还是服从负二项分布，检验量越大，结果误判的概率越小。同时，可见在各种情况下误判概率的最高点均在每 100 mL 药液的菌落数约为 11 cfu 处，提示药液的实际生物负载水平距离标准限值越近，越容易发生误判。

3　风险决策

3.1　不同检验量情况下的误判风险

在实际的药品生产过程中，对除菌过滤前药液的误判可能引发两类危害：一是药液生物负载低于标准限值，但被误判为不合格，以此引发偏差或不符合事件；二是药液生物负载高于标准限值，但被误判为合格，对下游的除菌过滤工艺形成挑战，可能影响终产品的无菌保证水平。前者会增加成本，后者则会导致产品质量安全问题，甚至威胁患者健康。

设定不同的风险边界，可估计不同检验量情况下误判风险的严重性。此处的风险边界可认为是药液发生误判的概率。风险边界为 1%、5%、10% 时，不同检验量对应结果的生物负载估计范围如表 3 所示。例如，风险边界为 5%，即要使结果误判概率不大于 5%，基于泊松分布，当 *V*=10 mL 时，每 100 mL 药液菌落数应≤ 3 cfu 或≥ 48 cfu；*V*=100 mL 时，每 100 mL 药液菌落数应≤ 6 cfu 或≥ 17 cfu。可见，在相同的风险边界条件下，增加检验量可增大能够进行准确估计的生物负载范围。

3.2　风险决策示例

假设过滤前药液体积较大，每 100 mL 药液的菌

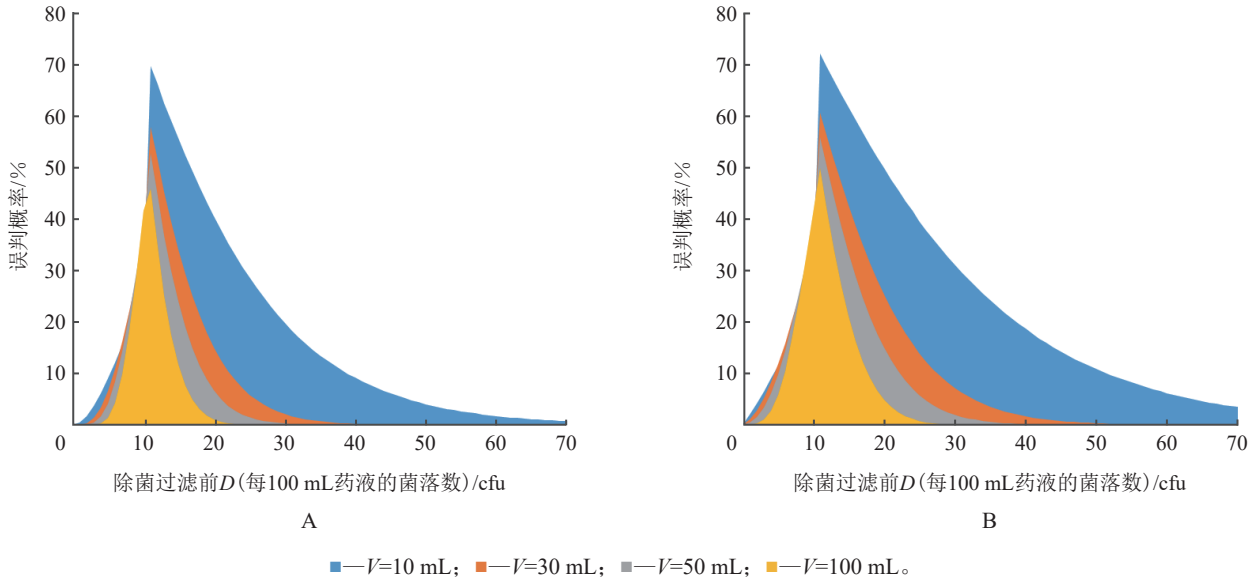


图 3 基于泊松分布（A）和负二项分布（B）时检验量（*V*）对结果误判概率的影响

Fig.3 Effect of Sample Volume (*V*) on Probability of Wrong Judgment, Based on Poisson Distribution (A) and Negative Binomial Distribution (B)

表 3 风险边界不同时检验量对生物负载估计范围的影响

Tab.3 Effect of Sample Volume on Estimation Range of Bioburden under Different Risk Bound Conditions

检验量（*V*）/mL	概率分布模型	*D*（每 100 mL 菌落计数）下限 /cfu			*D*（每 100 mL 菌落计数）上限 /cfu		
		风险边界 1%	风险边界 5%	风险边界 10%	风险边界 1%	风险边界 5%	风险边界 10%
10	泊松分布	1	3	5	67	48	39
	负二项分布	0	2	4	92	64	52
30	泊松分布	2	4	5	34	26	23
	负二项分布	0	2	4	44	33	28
50	泊松分布	3	5	6	27	22	19
	负二项分布	1	3	5	34	26	23
100	泊松分布	4	6	7	21	17	16
	负二项分布	2	4	5	25	20	18

落数监测历史数据多为 0 ～ 1 cfu，下游除菌工艺验证的冗余量为 200%，即限量标准为每 100 mL 不大于 10 cfu 时，工艺验证可接受的生物负载为每 100 mL 不大于 30 cfu。此时以负二项分布作为模型基础更为恰当。设定风险边界为 5%，由表 3 可见，当 $V \geqslant 10$ mL 时，若生物负载均值为每 100 mL 药液菌落数 <1 cfu，此时将合格药液误判为不合格的概率小于 5%，符合要求；$V \geqslant 50$ mL 时，判为合格药液的最大可能生物负载为每 100 mL 26 cfu，在下游工艺验证的冗余范围内（即每 100 mL 不大于 30 cfu），符合要求。因此，风险边界为 5%时，药液的检验量至少应为 50 mL。若风险边界设定为 1%，则药液的检验量至少应为 100 mL。风险边界的选择取决于产品的风险承受能力，如药液有抑菌性、下游工艺中有其他除菌或灭菌的工艺步骤，则产品的风险承受能力较高；如工艺尚不稳定、药液适宜微生物生长、生产过程中引入微生物污染的可能性高，则产品的风险承受能力较低，需选择较为严格的风险边界。

4 讨论

中间药液生物负载监测是无菌药品微生物污染控制策略中非常重要的一部分。对于法规标准中有所要求的中间药液（如除菌过滤前的药液），生产企业通常按法规标准中的要求选择检验量，而对于其他未在法规标准中明确要求的中间药液（如生物

制品原液），企业通常根据批产量、生产工艺自行制定限度标准并选择检验量。国外已有研究[8]讨论检验量对于除菌过滤前药液生物负载检测结果、终产品无菌保证水平的影响，重点探讨该场景下降低检验量的可行性。本研究虽以除菌过滤工艺为例，但应用范围不仅仅局限于除菌过滤前药液，也可应用于其他中间药液的生物负载监测。以泊松分布、负二项分布为基础模拟检验量对生物负载监测误判概率的影响，以及计算不同检验量、风险边界情况时药液生物负载的估计范围，能更直观地展示不同检验量情况下的结果判断风险。由结果可见，选择更大的检验量，可以更准确地估计药液实际的生物负载水平，发生误判的概率较低，既能够减少将合格药液误判为不合格带来的成本浪费，又能够降低将不合格药液误判为合格药液引起的药品质量安全风险。相同的风险边界下，选择更大的检验量，判为合格时药液的最大可能生物负载更低，对于下游工艺的挑战性更小。例如，对于除菌过滤工艺而言，相同的除菌过滤器可过滤的药液体积更大。同样的，应用于最终灭菌工艺时，对于灭菌工艺的挑战性也更小，终产品的无菌保证水平更高。

对于除菌过滤前的药液，通常会选择≥ 100 mL的检验量进行生物负载监测，但对于很多生物制品原液而言，总体积较小，生物负载标准又相对严格，部分企业采用与除菌过滤前药液相同的标准，即每100 mL 不大于 10 cfu，但考虑到总体积较小，检验量仅选择 10 或 20 mL[9]。此时，虽然检验量对于总体的代表性足够，但由于微生物计数可变性的特点，其检验结果受随机误差的影响非常大。参考本研究的结果（表 1、2），当每 100 mL 药液菌落数为 5 cfu，基于泊松分布和负二项分布模型计算检验量为 10 mL 时的误判概率分别为 9.02%、11.61%，分别是检验量为 100 mL 时误判概率的 6.58 倍、1.96 倍；当每 100 mL 药液菌落数为 20 cfu，基于泊松分布和负二项分布模型计算检验量为 10 mL 时的误判概率分别为 40.60%、50.00%，分别是检验量为 100 mL 时误判概率的 37.59 倍、10.12 倍。无论是合格还是不合格的药液，降低检验量均会导致更高的误判概率，对生产成本和药品质量都是不小的挑战。针对此种情况，建议在制定标准时，综合考虑微生物计数误差、下游工艺除菌能力以及可接受的风险水平，建立适当的标准，同时选择适宜的检验量和检验方法。

本研究以泊松分布和负二项分布为理论基础，模拟计算不同检验量情况下的误判概率，并列出以1%、5%和 10%为风险边界时生物负载的估值范围，上述结果可为药品生产企业在对除菌过滤 / 灭菌前药液以及其他中间药液的生物负载进行监测时选取合适的检验量提供参考。本文的数据并不能比较 2 种分布模型的优劣，而是基于文献中应用较多的 2 种分布模型分别计算数据，以说明检验量对结果判断的影响。哪种分布模型更为适用，取决于供试品的特点，需要收集实际样品的生物负载数据进行数据检验和分析。另外，本研究只讨论了由微生物分布所造成的计数结果判断风险，在实际的生物负载监测中，尤其是低生物负载水平的药液，还需要注意在取样、检验过程中避免引入微生物污染，以免发生由环境、人员、取样器具等造成的不符合事件[10]。

参考文献：

[1] EU. GMP Annex 1: manufacture of sterile products［S］. 2022.

[2] 国家药品监督管理局药品审评中心. 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）［EB/OL］.（2020-12-30）［2024-02-12］. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/8a1c258dea8798a6c6d6c1e0a14d1c1f.

[3] FDA. Guidance for industry sterile drug products produced by aseptic processing-current good manufacturing practice［EB/OL］.（2020-04-05）［2024-02-12］. https://www. fda. gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/sterile-drug-products-produced-aseptic-processing-current-good-manufacturing-practice.

[4] EMA. Guideline on the sterilisation of the medicinal product, active substance, excipient and primary container［EB/OL］.（2019-03-06）［2019-05-07］. https://www. ema. europa. eu/en/human-regulatory-overview/research-development/

scientific-guidelines.

[5] JORNITZ M W, AKERS J E, AGALLOCO J P, *et al*. Considerations in sterile filtration. Part Ⅱ: the sterilizing filter and its organism challenge: a critique of regulatory standards [J]. *PDA J Pharm Sci and Technol*, 2003, **57**(2): 88-96.

[6] 王杠杠, 王似锦, 马仕洪. 试验平皿数对低微生物负荷水平药品计数结果准确性的影响 [J]. 中国医药工业杂志, 2025, **56**(1): 96-100.

[7] 邓通洋, 程 琮, 冯维良, 等. 稀菌液细菌数服从泊松分布及其在菌落计数方面的应用 [J]. 中国卫生检验杂志, 2014, **24**(9): 1255-1256.

[8] YANG H, LI N, CHANG S. A risk-based approach to setting sterile filtration bioburden limits [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, **67**(6): 601-609.

[9] BAIN D, HARDY D, BELL B L, *et al*. Microbial monitoring for biological drug substance manufacturing: an industry perspective [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2015, **69**(3): 451-460.

[10] SANDLE T. Improving microbiological assurance for bioburden tests [J]. *Eur Pharm Rev*, 2016, **21**(3): 41-44.

（上接第 112 页）

terminal low pH incubation [J]. *Biologicals*, 2012, **40**(5): 345-352.

[8] 梁 婧, 张潇文, 李策生, 等. 低 pH 孵放病毒灭活效果回顾性验证评价 [J]. 中国输血杂志, 2016, **29**(9): 915-917.

[9] 张 航, 容新宗, 黄 琰, 等. 狂犬病人免疫球蛋白低 pH 孵放工艺的病毒灭活验证 [J]. 中国生物制品学杂志, 2020, **33**(11): 1312-1316.

[10] ICH. ICH Q7, good manufacturing practice guidance for active pharmaceutical ingredients [EB/OL]. (2015-01-10) [2024-06-06]. https://database. ich. org/sites/default/files/Q7_Q%26As_Q%26As. pdf.