

中图分类号: R955 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)17-0084-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.17.016



三层共挤输液袋包装系统密封性检测方法对比

赵海英, 吴连文, 丛金丽, 王丽丽, 仙 雯

(华润双鹤药业股份有限公司, 北京 100121)

摘要:目的 建立三层共挤输液袋包装系统密封性的快速、高效检测方法。方法 分析注射剂生产中常用包装系统密封性检测方法微生物挑战法和质量提取法的优点和缺点,采用这2种检测方法对三层共挤输液袋包装系统不同孔径(5, 10, 15 μm)阳性样品的密封性进行测试,对比2种方法的适用性。结果 微生物挑战法的测试周期长,重复性差,具有破坏性,且属概率性检测方法,不适用于工业化生产的实时检测;质量提取法的检测速度快,灵敏度较高,结果准确,且无破坏性,属确定性检测方法。微生物挑战法可检出三层共挤输液袋包装系统15 μm 孔径漏孔的密封性,而质量提取法可检出5 μm 孔径漏孔的密封性。结论 质量提取法的灵敏度较高,操作简便、快速,结果准确、可靠,可更好地满足大容量注射剂袋包装系统密封性的检测要求,且可实现实时、快速检测,确保药品质量安全、可控。

关键词:三层共挤输液袋;包装系统;密封性;微生物挑战法;质量提取法

Comparison of Container - Closure Integrity Test Methods for Three - Layer Co - Extruded Infusion Bag Packaging System

ZHAO Haiying, WU Lianwen, CONG Jinli, WANG Lili, XIAN Wen

(China Resources Double - Crane Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing, China 100121)

Abstract: Objective To establish a rapid and efficient for the container - closure integrity test (CCIT) method of three - layer co - extruded infusion bag packaging systems. **Methods** The advantages and disadvantages of commonly used CCIT methods such as microbial challenge method and mass extraction method in injection production were analyzed. The two methods were used to test the closure integrity of positive samples of three - layer co - extruded infusion bags with different pore sizes (5, 10, 15 μm), and the applicability of the two methods was compared. **Results** The microbial challenge method had a long testing cycle, poor repeatability with destruction, and belonged to the probabilistic test method, which was not suitable for real - time detection in industrial production. The mass extraction method had fast detection speed, high sensitivity, accurate results without destruction, and belonged to the deterministic test method. The microbial challenge method could test the closure integrity of the three - layer co - extruded infusion bag packaging system with 15 μm pore leaks, while the mass extraction method could test the closure integrity of the three - layer co - extruded infusion bag packaging system with 5 μm pore leaks. **Conclusion** The mass extraction method has high sensitivity, it is simple, fast, accurate and reliable, which can better meet the requirements of closure integrity testing of large - volume injection bag packaging systems, and can achieve real - time and rapid testing to ensure the safe and controllable quality of drugs.

Key words: three - layer co - extruded infusion bag; packaging system; closure integrity; microbial challenge method; mass extraction method

包装系统密封性又称容器密封完整性,是指包装系统防止内容物损失、微生物侵入及气体(氧气、空气、水蒸气等)或其他物质进入,保证药品持续符合安全与质量要求的能力;也指对任何破裂或缝隙引起包装泄漏的检测(包括理化或微生物检测),一些检测可确定泄漏的尺寸和/或位置。包装密封性测试(CCIT)方法包括概率性检测方法(如传统的微生物挑战法、示踪液体法等)和确定性检测方法(如真空衰减法、压力衰减法、高压放电法、质量提取法、激光顶空分析法等)^[1-2]。微生物挑战法又称微生物侵入试验法,是对最终灭菌容器/密封系统完好性的挑战性试验,考察和确认容器/密封系统的完好性。此外,将物理学检测方法和微生物

侵入风险相关联,评估物理学检测方法识别泄漏风险的能力。概率性检测方法的主观性强,属定性测试,为破坏性检测,样品制备和操作复杂,重复性差,数据无法追溯。确定性检测方法的可靠性高,灵敏度高,属定量测试,为无损检测,可重复测试,数据可追溯^[3]。国外的监管机构已出台密封性检测的相关法规。如2024年版《美国药典》(USP) <1207>规定需在整个产品生命周期推荐执行CCIT,推荐使用确定性的方法检测^[4]。欧盟的药品生产质量管理规范(GMP)规定无菌药品容器要用经验证的方法密封,用熔融方法密封的容器(如玻璃或塑料安瓿)要100%做完整性检查,其他容器要根据适当的程序检查其完整性^[5]。我国国家药品监督管理

局药品审评中心(CDE)2020年发布《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》^[6],明确指出:“稳定性考察初期和末期进行无菌检查,其他时间点可采用包装系统密封性替代。包装系统密封性可采用物理完整测试方法(如压力/真空衰减等)进行检测,并进行方法学验证。”同年发布的《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南(试行)》^[7]对密封性研究做出了更详细的规定。本研究中采用微生物挑战法和质量提取法检测三层共挤输液袋的包装系统密封性^[8-9],以对比检测三层共挤输液袋包装系统密封性的适用性。现报道如下。

1 仪器、试剂与菌株

1.1 仪器

ME-2型密封性检测仪(美国Pfeiffer-Vacuum公司);BSC-1604IIA2型生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司);CX43RF型生物显微镜(日本Olympus公司);DHP-9272型电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);LT-CPS80C型立式压力蒸汽灭菌器(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司);C660B型泄漏与密封强度测试仪(济南兰光机电技术有限公司);ZF-1型三用紫外分析仪(上海力辰邦西仪器科技有限公司)。

1.2 试剂

灌装药液的三层共挤输液袋(批号为D202109161),三层共挤输液空袋(批号为D2109161K),均由华润双鹤药业股份有限公司提供,规格为250 mL;胰酪大豆胨液体培养基(TSB,批号为20210524),胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA,批号为20210419),溴化十六烷基三甲基铵琼脂培养基(批号为20210511),革兰氏染色试剂盒(批号为20210426),均购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;过氧乙酸(广州格林沃尔生物医药技术有限公司,批号为20210201S);异丙醇(德国Merck公司,批号为K53060340107);氯化钠(西陇科学股份有限公司,批号为2006062)。

1.3 菌株

铜绿假单胞菌[中国医学细菌保藏管理中心(CMCC),菌种编号为CMCC10104(B),批号为2a23-1]。

2 方法与结果

2.1 微生物挑战法

2.1.1 挑战条件与挑战菌种选择

挑战条件:通过模拟药品生命周期中可能经历的极端条件进行微生物挑战,来评估药品在全生命周期中存在微生物侵入的潜在风险。在《药品GMP指南》^[3]规定的常压/4 h基础上,参考2024年版USP<381>^[10]和国际标准化组织(ISO)8871-5:2016^[11]/《药品GMP指南》色水法条件,最终选用-27 kPa/10 min、常压/3 h 50 min为挑战条件。

挑战菌种:微生物挑战法常用菌种有铜绿假单胞菌、缺陷短波单胞菌、黏质沙雷菌等。相对于缺陷短波单胞菌和黏质沙雷菌而言,铜绿假单胞菌的大小约为 $0.5\text{ }\mu\text{m}\times(1.5\sim3.0)\text{ }\mu\text{m}$,尺寸更大。软袋包装最小缺陷孔径约为 $5\text{ }\mu\text{m}$,考虑细菌大小与材料孔径的关系,使细菌既能穿透又能避免更高污染水平,确保微生物侵入试验结果的准确性和可靠性,最终选择铜绿假单胞菌。

2.1.2 试验样品制备

以未知泄漏的合格空包材灌装培养基密封后的样品为阴性样品。采用毛细管在包装材料上制造孔径分别为5,10,15 μm 的漏孔(每种孔径各制备10个),通过计量确认准确的漏孔尺寸,并记录,然后灌装用培养基密封的样品,即为阳性样品;按阴性样品进行灌装培养基和灭菌处理,但不进行微生物挑战试验,以最终形成的未长菌培养基作为阴性对照,以判断阳性样品和阴性样品是否长菌,即为阴性对照样品。试验样品见表1。

表1 微生物挑战法试验样品信息

Tab. 1 Information of test samples for the microbial challenge test method

编号	样品	灌装体积/mL	制备数量/个	用途
A	阴性样品	250	5	培养基促生长能力验证
B	阴性对照样品	250	5	微生物挑战试验阴性对照
C	阴性对照	250	10	
D	5 μm 阳性样品	250	10	微生物挑战试验样品(用激光设备
E	10 μm 阳性样品	250	10	在输液袋打孔)
F	15 μm 阳性样品	250	10	

2.1.3 培养基制备

TSB:根据说明书的配制要求,将30.0 g TSB溶于1 000 mL水中,即得。

TSA:根据说明书的配制要求,将40.0 g TSA溶于1 000 mL水中,即得。

2.1.4 灌装灭菌与无菌确认

灌装灭菌:空包材与未灌装的阳性样品辐照灭菌后,无菌灌装TSB,密封,再将灌装好的样品进行辐照灭菌。

无菌确认:取上述经灭菌的试验样品,置33℃下培养14 d,观察并记录试验样品中培养基的状态,样品A-F均应无菌生长。

2.1.5 培养基促生长能力验证

菌悬液制备:从铜绿假单胞菌的新鲜斜面上取一整环培养物,分别接种至2支含10 mL无菌TSB的试管中,33℃下培养18 h。再将试管中的培养物分别转入含1 000 mL TSB的容器内,33℃下培养24 h,菌悬液浓度应不低于 10^5 cfu/mL 。

菌悬液计数:取培养基促生长能力验证的菌悬液1 mL,置9 mL 0.9%氯化钠溶液中,制成1:10(V/V)的稀释

液,按此比例进行梯度稀释,吸取稀释菌悬液 1 mL,置无菌平皿中,每个梯度稀释菌悬液平行制备 2 个平皿,倾注 15 ~ 20 mL 无菌 TSA 混匀,置 33 ℃ 培养箱中培养 2 d 后计数,菌悬液浓度应不低于 10⁵ cfu / mL。

菌悬液接种:在生物安全柜内取确认无菌的阴性样品 5 个(编号为 A),接种菌悬液,注入菌悬液 0.1 mL,接种菌为 1:10⁴(V/V)稀释级别,含菌量为 49 cfu / 0.1 mL,将接种的试验样品置 33 ℃ 下培养 3 d。消毒输液袋袋身,去掉塑料盖,用注射器吸取菌悬液,从组合盖注射至袋中,用消毒后的封口膜密封注射孔。培养完成后,侵入微生物样品,经溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基平板划线分离,置培养箱中,33 ℃ 培养 2 d,确认菌种。

可接受标准与结论:所有接种样品的微生物生长良好;采用革兰氏染色,镜检结果应呈红色,细胞形态结构应符合接种菌株的特征,菌落在选择性平板上显蓝绿色,在三用紫外分析仪下显荧光。若接种铜绿假单胞菌的所有样品(编号为 A)中微生物均生长良好,且生长菌种均为接种菌种,则证明培养基有促菌生长能力。

2.1.6 微生物挑战试验

菌悬液制备:制备方法同 2.1.5 项下。

菌悬液计数:取挑战试验前的菌悬液 1 mL,置 9 mL 0.9% 氯化钠溶液中,制成 1:10(V/V)的稀释液,按 2.1.5 项下菌悬液计数方法进行挑战试验。取完成挑战试验后的菌悬液 1 mL,同法操作。挑战试验前和挑战试验后的菌悬液浓度均应不低于 10⁵ cfu / mL,计数结果见表 2。

表 2 挑战试验前后的菌悬液计数结果

Tab. 2 Results of the bacterial suspension count before and after the microbial challenge test

取样点	稀释级别 (V/V)	平板菌落数(个)			菌悬液浓度 (cfu / mL)
		平板 1	平板 2	$\bar{X}$	
挑战试验前	1:10 ⁵	57	73	65	6.5 × 10 ⁶
挑战试验后	1:10 ⁵	59	45	52	5.2 × 10 ⁶

样品制备:将菌悬液倒入合适的容器中,将确认无菌的试验样品(编号为 C - F)倒入菌悬液中,减压(压力为 - 27 kPa)浸泡 10 min,恢复至常压后继续浸泡 3 h 50 min,样品的颈部、密封处的外表面和阳性样品的漏孔部位均应完全浸泡在菌悬液中。浸泡完成后,其外表用含 0.5% 过氧乙酸的 70% 异丙醇溶液消毒,即得挑战试验样品。取确认无菌的试验样品 5 个(编号为 B),不做任何处理,作为阴性对照样品。

可接受标准与结论:取上述挑战试验样品(编号为 C - F)和阴性对照样品(编号为 B),置 33 ℃ 培养箱中培养 7 d 后观察。所有浑浊长菌的样品均需检查容器封口是否完好,以及侵入菌是否为接种菌株。可接受标准为阴性对照样品均应未长菌;挑战试验样品如浑浊、长

菌,则需检查容器封口是否完好,并确认侵入菌是否为接种菌株。结果阴性对照样品和阴性样品挑战试验均无浑浊,未侵入,封口完好,目标菌株侵入概率为 0;阳性样品挑战试验结果见表 3。

表 3 阳性样品挑战试验结果

Tab. 3 Results of the the microbial challenge test of positive samples

编号	漏孔级别	序号	孔径(μm)	是否浑浊	封口完好	目标菌株	侵入结果	侵入概率(%)
D	5 μm	1	5.87	否	-	-	未侵入	60.00
		2	5.58	是	是	是	侵入	
		3	5.62	是	是	是	侵入	
		4	5.53	否	-	-	未侵入	
		5	5.64	是	是	是	侵入	
		6	5.58	是	是	是	侵入	
		7	5.53	是	是	是	侵入	
		8	5.37	否	-	-	未侵入	
		9	5.51	是	是	是	侵入	
		10	5.51	否	-	-	未侵入	
E	10 μm	1	9.16	是	是	是	侵入	90.00
		2	8.89	是	是	是	侵入	
		3	9.14	是	是	是	侵入	
		4	9.33	否	-	-	未侵入	
		5	9.04	是	是	是	侵入	
		6	8.86	是	是	是	侵入	
		7	9.33	是	是	是	侵入	
		8	9.32	是	是	是	侵入	
		9	9.62	是	是	是	侵入	
		10	9.20	是	是	是	侵入	
F	15 μm	1	16.72	是	是	是	侵入	100.00
		2	16.82	是	是	是	侵入	
		3	16.77	是	是	是	侵入	
		4	16.55	是	是	是	侵入	
		5	16.04	是	是	是	侵入	
		6	16.38	是	是	是	侵入	
		7	16.63	是	是	是	侵入	
		8	16.33	是	是	是	侵入	
		9	16.72	是	是	是	侵入	
		10	16.23	是	是	是	侵入	

注:- 表示封口完好和目标菌株未侵入,无须检查。

Note:- indicates that the seal is intact and the target strain has not invaded,no inspection is required.

2.2 质量提取法

2.2.1 试验方法

质量提取法的测试系统是一个封闭系统,由真空泵、真空贮罐、智能分子流量传感器(IMFS)和真空试验腔体组成。将样品封闭在真空试验腔体中,通过在真空状态下测量从样品中提取的质量流量来检测包装泄漏情况。从被测试包装中提取到真空测试室的质量通过

IMFS 流到真空贮罐,以使系统压力平衡。IMFS 测量流经的质量流量,若质量流量超过一定限值,则系统判定样品为泄漏^[9,12]。

2.2.2 测试参数设定

测试过程:质量提取法的测试过程分为超级大漏检测(Gross Leak Check)、大漏检测(Large Leak Check)和微漏检测(Fine Leak Check)。1)超级大漏检测。预抽真空 1:用于对测试系统进行快速抽真空,以使系统达到真空状态。压力检测:在指定预抽真空 1 时间内,系统外部压力需达到指定真空度,否则判定为超级大漏,并结束测试。若样品达到指定真空度,则进入大漏检测。2)大漏检测。预抽真空 2:进行第二测试阶段预抽真空,使压力达到高真空,时间一般很短(仅几秒钟),用于在微漏深度脱气前判断是否存在大漏。若流量大于大漏限值,则判定为大漏,并结束测试;否则进入微漏检测。3)微漏检测。抽真空:微漏测试前持续抽真空(一般持续 10~30 s),以深度清除测试系统内的噪音干扰(如水汽、包材脱气、环境湿度等)。稳定:抽真空后稳定的时间一般应长于 8 s,用质量流量传感器检测质量流量变化,有利于区分阴性样品和阳性样品。若流量大于微漏限值,则判定为微漏;否则判定为样品合格。

测试参数:方法学测试参数主要指测试周期的时间。在测试腔体内放入阴性样品和阳性样品,在仪器厂商提供的参数基础上设置测试周期的时间,原则是满足阴性样品和阳性样品具有良好的区分度,且检测结果稳定、可靠,其他时间采用仪器默认值。时间参数设定为超级大漏抽真空时间 8 s,大漏抽真空时间 15 s,微漏抽真空时间 25 s、稳定时间 9 s。根据仪器厂商推荐和项目经验制订本品在 5 μm 标准漏孔下的包装系统临界阈值,包括超级大漏限值、大漏限值和微漏限值,确保设定阈值在一定操作环境和条件范围内可 100.00% 正确区分阴性样品和阳性样品。

2.2.3 样品

以不存在泄漏的客户样品为阴性样品,采用毛细管打孔法制造不同孔径漏孔的阳性样品。样品信息见表 4。

表 4 质量提取法试验样品信息

Tab.4 Information of test sample for the mass extraction method

样品	描述	数量(个)
阴性样品	不存在已知泄漏的客户样品	40
阴性样品 + 5 μm 标准漏孔	已知泄漏量的标准样品	30
阳性样品(毛细管打孔,以制剂填充)	5 μm (5.982 μm , 5.814 μm , 5.850 μm , 5.885 μm , 5.520 μm)	5
	10 μm (9.182 μm , 8.770 μm , 9.292 μm , 8.883 μm , 8.982 μm)	5
	15 μm (15.380 μm , 15.272 μm , 15.244 μm , 15.700 μm , 15.293 μm)	5
空腔体	容纳待测试样品	2

2.2.4 方法学验证

方法验证:为证明针对包装系统选用的试验方法适合相应的检测要求,依据 2020 年版《中国药典(四部)》通则 9101 分析方法验证指导原则^[13]和 2024 年版 USP <1207> 无菌药品包装密封性评价的相关规定^[4] 验证项目的可接受标准。针对设定的方法,使用阴性样品、各类阳性样品、空腔体、5 μm 标准漏孔进行验证,通过阳性样品确定方法的孔径灵敏度,以验证该方法的可靠性。

系统适用性试验:取 2.2.3 项下阴性样品和阴性样品 + 5 μm 标准漏孔,分别检测 6 次。结果阴性样品均未检出,阴性样品 + 5 μm 标准漏孔均检出,符合可接受标准。

专属性试验:取 2.2.3 项下阴性样品,针对样品设置专属性的时间参数,去除包材挥发性物质和吸附的水汽等本底的影响,对阴性样品和 5 μm 标准漏孔进行检测。结果超级大漏压力值_{阴性样品} < 5 Torr(760 Torr = 1 标准大气压);微漏压力值_{5 μm 标准漏孔} / 压力值_{阴性样品} > 2 Torr。符合可接受标准,表明方法专属性良好。

检测限确定:1)超级大漏限值确定。取 2.2.3 项下阴性样品 2 个和空腔体 2 个,进行测试,记录压力值,结果见表 5。按公式计算超级大漏限值(X), $X = (X_{\text{阴性样品}} + X_{\text{空腔体}}) / 2$,结果限值为 7.543 Torr。2)大漏限值确定。取 2.2.3 项下阴性样品 30 个,进行测试,记录流量,结果见表 6。根据厂家推荐及项目经验,大漏限值一般设为阴性样品的 5 倍平均限值,结果限值为 26.330 $\mu\text{g} / \text{min}$ 。3)微漏限值确定。取 2.2.3 项下阴性样品和阴性样品 + 5 μm 标准漏孔各 30 个,分别均分为 3 组进行测试,结果见表 7。按公式计算微漏限值(X), $X = [(X_1 + 3SD_1) + (X_2 - 3SD_2)] / 2$,结果限值为 16.283 $\mu\text{g} / \text{min}$ (空气摩尔质量为 1200 $\mu\text{g} / \text{min}$,据此计算 16.283 $\mu\text{g} / \text{min}$ 为 0.0136 sccm,根据 Lenox Laser 公司生产的计算器计算,该泄漏率限值相当于孔径 1.26 μm)。

表 5 超级大漏限值确定结果(Torr, $n = 2$)

Tab.5 Confirmation results of the gross leakage limit (Torr, $n = 2$)

样品	1	2	$\bar{X}$
阴性样品	2.212	2.040	2.126
空腔体	13.000	12.920	12.960

表 6 大漏限值确定结果(μg/min, n = 30)

Tab. 6 Confirmation results of the large leakage limit (μg/min, n = 30)

序号	阴性样品	序号	阴性样品	序号	阴性样品	序号	阴性样品
1	5.825	9	5.642	17	5.295	25	5.026
2	5.684	10	4.597	18	5.037	26	4.955
3	5.765	11	7.076	19	5.412	27	4.730
4	6.476	12	5.588	20	5.919	28	4.838
5	5.430	13	6.009	21	4.838	29	4.356
6	5.140	14	6.173	22	4.401	30	3.816
7	3.970	15	7.542	23	4.394	$\bar{X}$	5.266
8	4.074	16	4.753	24	5.207		

表 7 微漏限值确定结果(μg/min, n = 30)

Tab. 7 Confirmation results of the fine leakage limit (μg/min, n = 30)

序号	阴性样品			序号	阴性样品 + 5 μm 标准漏孔		
	1 组	2 组	3 组		1 组	2 组	3 组
1	7.435	7.259	5.550	1	26.532	25.610	24.035
2	8.312	6.644	5.487	2	28.120	27.032	24.406
3	7.599	6.659	5.532	3	26.465	25.270	24.660
4	9.245	6.715	6.130	4	26.942	25.264	25.350
5	8.492	7.905	5.829	5	26.780	26.265	24.522
6	8.514	6.262	5.730	6	28.246	26.214	24.742
7	5.546	6.524	5.913	7	25.294	26.256	25.692
8	5.456	6.134	5.770	8	25.080	26.020	24.844
9	6.091	6.612	5.035	9	26.823	26.640	24.582
10	5.734	6.277	5.003	10	25.865	26.270	25.842
$\bar{X}_1$		6.513		$\bar{X}_2$		25.855	
SD_1		1.112		SD_2		1.046	
$\bar{X}_1 + 3 SD_1$		9.849		$\bar{X}_2 - 3 SD_2$		22.717	

检测限验证:取 2.2.3 项下阴性样品 10 个、空腔体 2 个和阳性样品 15 个,按随机顺序检测。检测结果可接受标准为阴性样品未检出,空腔体检出,以阳性样品验证检出能力。结果该方法的准确度为 100.00%,可准确地区分阴性样品、空腔体及阳性样品,适合样品的密封性检测。详见表 8。

表 8 检测限验证结果

Tab. 8 Results of the detection limit

样品	孔径	检测数(个)	未检出(个)	检出(个)	准确度(%)
阴性样品	10		10	0	100.00
空腔体	2		0	2	100.00
阳性样品	5 μm	5(5.982 μm, 5.814 μm, 5.850 μm, 5.885 μm, 5.520 μm)	0	5	100.00
	10 μm	5(9.182 μm, 8.770 μm, 9.292 μm, 8.883 μm, 8.982 μm)	0	5	100.00
	15 μm	5(15.380 μm, 15.272 μm, 15.244 μm, 15.700 μm, 15.293 μm)	0	5	100.00

检测范围:由检测限验证结果可知,该方法的检测范围 > 16.283 μg/min。经阳性样品验证,检测范围为

5.520 μm ~ 空腔体。

重复性试验:取 2.2.3 项下阴性样品和阴性样品 + 5 μm 标准漏孔,分别检测流量 6 次,记录检测结果,并计算 RSD。结果的 RSD < 15%(n = 6),表明符合可接受标准。详见表 9。

表 9 重复性试验结果

Tab. 9 Results of the repeatability verification test

样品	流量(μg/min)						RSD(%)
	1	2	3	4	5	6	$\bar{X}$
阴性样品	5.485	5.586	4.934	5.176	6.505	5.292	5.496
阴性样品 + 5 μm 标准漏孔	24.432	24.286	25.025	24.331	23.920	23.644	24.273

中间精密密度试验:分别由 2 名实验员(实验员 A 和 B)进行试验,取 2.2.3 项下阴性样品和阴性样品 + 5 μm 标准漏孔,分别于不同时间检测流量 6 次,记录检测结果,并计算 RSD。结果的 RSD < 20%(n = 12),表明符合可接受标准。详见表 10。

表 10 中间精密密度试验结果(n = 12)

Tab. 10 Results of the intermediate precision test (n = 12)

样品	实验员	流量(μg/min)						RSD(%)
		1	2	3	4	5	6	$\bar{X}$
阴性样品	A	5.485	5.586	4.934	5.176	6.505	5.292	5.496
	B	7.070	5.687	5.669	5.579	5.652	7.382	6.173
阴性样品 + 5 μm 标准漏孔	A	24.432	24.286	25.025	24.331	23.920	23.644	24.273
	B	26.170	25.083	25.572	26.176	24.994	25.647	25.607

耐用性试验:改变微漏抽真空时间参数为 ± 2 s 和稳定时间为 ± 1 s,取 2.2.3 项下阴性样品和 5 μm 阳性样品各 5 个,按随机顺序检测。可接受标准为检出 / 未检出结果与微漏抽真空时间参数改变前一致。结果修改时间参数后的阴性样品均未检出,阳性样品均检出,与时间参数改变前一致。详见表 11。

表 11 耐用性试验结果

Tab. 11 Results of the durability test

样品	检测数(个)	抽真空时间 25 s, 稳定时间 9 s		抽真空时间 27 s, 稳定时间 10 s		抽真空时间 23 s, 稳定时间 8 s	
		未检出(个)	检出(个)	未检出(个)	检出(个)	未检出(个)	检出(个)
阴性样品	5	5	0	5	0	5	0
5 μm 阳性样品	5	0	5	0	5	0	5

2.3 2 种检测方法的检测结果

微生物挑战法:在设定参数条件下的研究发现,阴性样品、5 μm 阳性样品、10 μm 阳性样品、15 μm 阳性样品的侵入率分别为 0, 60.00%, 90.00%, 100.00%。以 100.00% 侵入的孔径作为灵敏度检测,本品的微生物挑战法的灵敏度为 15 μm。

质量提取法:制备毛细管打孔阳性样品,对其方法进行验证,最终设定超级大漏抽真空时间为 8 s,超级

大漏压力检测限为7.543 Torr;大漏抽真空时间为15 s,大漏检测限为26.330 $\mu\text{g}/\text{min}$;微漏抽真空时间、稳定时间分别为25.9 s,微漏检测限为16.283 $\mu\text{g}/\text{min}$ 。经验证,在上述检测参数下,该方法的系统适用性试验、检测限、准确度、检测范围、重复性试验、中间精密度试验、耐用性试验均符合规定,适用于三层共挤输液袋包装样品的检测,对三层共挤输液袋包装5 μm 及以上漏孔的检出率高达100.00%。

3 讨论

微生物挑战法是普遍认可的注射剂密封性检测方法。通过微生物挑战法与其他物理方法比较,可确定合适的包装系统密封完整性检测方法,但该方法的测试周期较长,又是概率性检测方法,具有破坏性,仅适用于实验室方法的建立或检测,不适用于工业化生产的实时检测。

质量提取法是2024年版USP <1207>^[4]中推荐的确定性泄漏检测技术,该方法的基本原理为通过设置阈值可判断容器的密封性,测试过程中发现测试腔体的选择和设计直接影响测试结果。对于袋包装药品,测试腔的整体尺寸要能紧密贴合软袋的外形,同时也要使气体易于环绕供试包装流动。药品与漏孔的距离越近,该方法的灵敏度就越高。该方法的检测速度非常快,为公认的注射剂包装系统密封性检测方法^[14-16]。

对于三层共挤输液袋包装系统密封性的检测,本研究中制备了3种不同孔径(5, 10, 15 μm)的阳性样品,通过阳性样品的对照试验,验证质量提取法对三层共挤输液袋包装5 μm 及以上漏孔全部检出,具有较高的灵敏度、较好的准确度与精密度。与微生物挑战法相比,质量提取法的检测时间短,灵敏度高,错误风险低,定量测试结果更客观、准确,不易受外界环境因素的影响,假性率低^[17]。随着国内注射剂仿制药一致性评价工作的深入开展,更多的确定性检测方法因其灵敏度高、检测速度快、非破坏性等优势,将逐步替代概率性的传统检测方法,用于注射剂类产品商业化生产过程的实时检测,确保药品质量安全可控。

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):5-11.
- [2] 封二飞,张筱宜,赵明.无菌药品容器密封完整性检测方法对比研究[J].中国药业,2021,30(14):51-54.
- [3] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心.药品GMP指南:无菌制剂(上册)[M].北京:中国医药科技出版社,2023:398-413.
- [4] United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia <1207> Package Integrity Evaluation — Sterile Products[EB/OL]. (2024-01-05) [2025-07-20]. https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M99926_01_01.html.

- [5] European Commission. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use: Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products[EB/OL]. (2022-08-22) [2025-07-20]. https://health.ec.europa.eu/document/download/e05af55b-38e9-42bf-8495-194bbf0b9262_en?filename=20220825_gmp-an1_en_0.pdf.
- [6] 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) [2025-07-20]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11>.
- [7] 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性研究技术指南(试行)[EB/OL]. (2020-10-21) [2025-07-20]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a4f9f16844fbed617f8e8ed59485c1d>.
- [8] 施建国,蒋宇丹.注射剂包装系统的2种密封性检测方法的对比研究[J].中国医药工业杂志,2023,54(10):1493-1495.
- [9] 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):1565-1570.
- [10] United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia <381> Elastomeric Components in Injectable Pharmaceutical Product Packaging / Delivery Systems[EB/OL]. (2024-01-05) [2025-07-20]. https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M99140_06_01.html.
- [11] International Organization for Standardization. ISO 8871-5: 2016 Elastomeric parts for parenterals and for devices for pharmaceutical use Part 5: Functional requirements and testing[EB/OL]. (2016-10) [2025-07-20]. <https://www.iso.org/standard/68560.html>.
- [12] 王颖,杨梦雨,赵霞,等.质量提取法测试直立式聚丙烯输液袋包装的葡萄糖注射液密封完整性[J].药学研究,2022,41(5):299-302.
- [13] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2020:480-483.
- [14] 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):1013-1017.
- [15] 聂蕾,刘玉美,赵延轲,等.质量提取法测试盐酸法舒地尔注射液玻璃安瓿包装容器的密封完整性[J].药物分析杂志,2023,43(12):2113-2120.
- [16] 郭燕燕,张莞英,邱怡婷,等.质量提取法对注射用头孢他啶包装系统的密封完整性研究[J].包装工程,2023,44(21):273-278.
- [17] 张芳芳,咸富荣,姚琳.质量提取法和微生物挑战法测定药品包装用西林瓶密封性的关联分析[J].药物分析杂志,2023,43(11):1920-1924.

(收稿日期:2024-08-06;修回日期:2025-07-27)