

验证需求的风险分析

作者：刘禹

手机：13651615863

E-mail: alex.liu.shanghai@gmail.com

摘要

本文以方法验证和专用线的清洁验证为例，讨论如何应用流程分析的方法发现流程风险，进而确定验证需求。

关键词

方法验证，方法转移，药典方法确认，清洁验证

Identification of Validation Requirements by Risk Analysis

Author: Liu Yu

Abstract

The application of process analysis on identification of risk and validation requirements are illustrated in method validation and dedicated production line cleaning validation.

Key Words

Method Validation, Method Transfer, Verification of Compendial Method, Cleaning Validation

前言

验证之前，应当分析验证对象的风险，进而确定验证需求。我在咨询工作中，发现很多验证人员是在死记硬背指南中的验证要求，或者道听途说，不能根据实际情况确定验证需求。主要的原因，是缺少风险分析的方法。

本文以方法验证和专用线清洁验证为例，示范如何应用流程分析的方法进行风险分析，并确定验证需求。

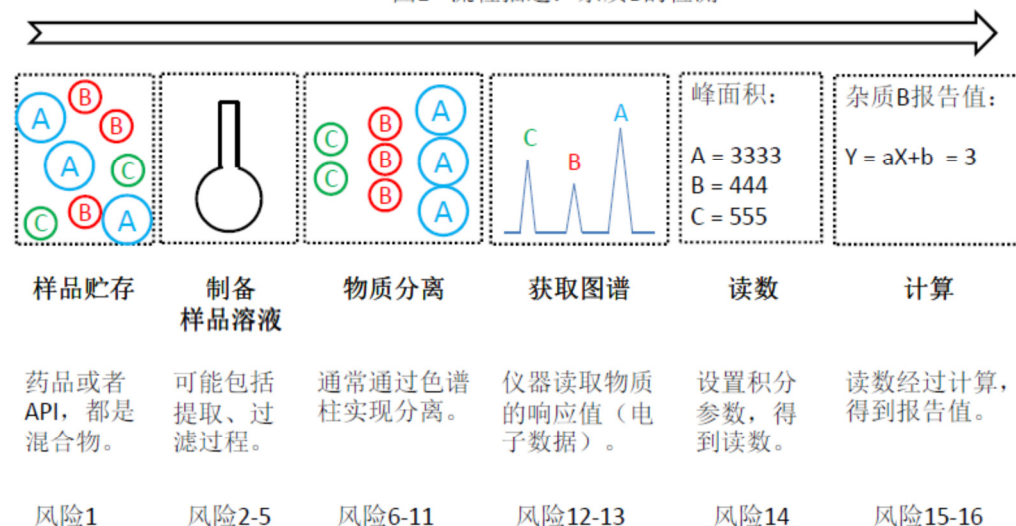
方法验证的设计

检测方法的可靠性，在于测量值与真实值一致，即“误差”得到有效控制。这是方法验证的目的。在方法验证中，随机误差通过中间精密度进行评估，系统误差通过其它验证项目进行评估。

下面以一个检测方法为例（杂质 B 的检测），分析下面情况的验证需求：

- (1) 初次验证;
- (2) 药典方法确认 (确认药典方法对于某个来源样品的适用性, 以及检测实验室能否满足检测要求);
- (3) 方法转移 (将已经验证的方法, 从一个实验室转移到另外一个实验室。方法转移中, 样品来源相同, 我们假设转出方实验室已经进行了完整的初次验证)。

图1 - 流程描述: 杂质B的检测



该检测方法的流程描述见图 1, 验证需求的风险分析过程如下, 分析结论见表 1。

<p>备注:</p> <p>“缺乏信息”: 药典方法没有提供信息。</p> <p>“实验室条件”: 该项目受到实验室实际条件的影响, 例如人员操作、设备性能和色谱柱性能等等。</p> <p>“样品来源”: 不同来源的样品可能含有不同的杂质或者辅料, 可能会对检测方法造成影响。</p> <p>“样品特性”: 该项目由样品特性决定。只要样品特性不变, 该项目就不受影响。</p> <p>“方法特性”: 该项目由方法特性决定。</p>														
<p>样品贮存步骤</p> <p>风险 1: 如果样品有温度要求, 或者有稳定性方面的问题, 那么贮存时间的增加, 是否会造成杂质 B 的含量变化, 或者造成物理状态改变而难以检测?</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>---</th> <th>验证要求</th> <th>依据</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>初次验证</td> <td>贮存有效期</td> <td>---</td> </tr> <tr> <td>方法确认</td> <td>需要</td> <td>缺乏信息</td> </tr> <tr> <td>方法转移</td> <td>否</td> <td>样品特性</td> </tr> </tbody> </table>			---	验证要求	依据	初次验证	贮存有效期	---	方法确认	需要	缺乏信息	方法转移	否	样品特性
---	验证要求	依据												
初次验证	贮存有效期	---												
方法确认	需要	缺乏信息												
方法转移	否	样品特性												
<p>制备样品溶液步骤</p> <p>风险 2: 如果有提取过程, 是否会吸附杂质 B 或者造成其降解?</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>---</th> <th>验证要求</th> <th>依据</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>初次验证</td> <td>准确度</td> <td>---</td> </tr> <tr> <td>方法确认</td> <td>需要</td> <td>实验室条件</td> </tr> <tr> <td>方法转移</td> <td>需要</td> <td>实验室条件</td> </tr> </tbody> </table>			---	验证要求	依据	初次验证	准确度	---	方法确认	需要	实验室条件	方法转移	需要	实验室条件
---	验证要求	依据												
初次验证	准确度	---												
方法确认	需要	实验室条件												
方法转移	需要	实验室条件												

风险 3：提取条件的细微变化（实验室内可能的变化，如 pH 和提取时间的细微变化），是否会对提取过程造成影响？

---	验证要求	依据
初次验证	耐用性	---
方法确认	否	方法特性
方法转移	否	方法特性

风险 4：过滤过程是否会吸附杂质 B，或者引入可能干扰检测的杂质？

---	验证要求	依据
初次验证	滤器研究	---
方法确认	需要	缺乏信息
方法转移	否	型号一致

风险 5：样品溶液和标准品溶液是否有稳定性的问题？如果发生 OOS，原溶液多长时间内是有效的？

---	验证要求	依据
初次验证	溶液稳定性	---
方法确认	需要	缺乏信息
方法转移	否	样品特性

物质分离

风险 6：A、B、C 是否能完全分开？

---	验证要求	依据
初次验证	专属性	---
方法确认	需要	样品来源
方法转移	需要	实验室条件

风险 7：A 和 C 的存在，有没有可能影响 B 的分离？

---	验证要求	依据
初次验证	准确度	---
方法确认	需要	样品来源
方法转移	否	方法特性

风险 8：色谱柱的不同品牌、色谱柱的使用寿命，是否会影响分离过程的效果？

---	验证要求	依据
初次验证	耐用性	---
方法确认	需要	缺乏信息
方法转移	需要	实验室条件

风险 9：分离过程条件的细微变化（实验室内可能的变化，如 pH 和柱温的细微变化），是否会对分离过程造成影响？

---	验证要求	依据
初次验证	耐用性	---
方法确认	否	方法特性
方法转移	否	方法特性

风险 10：样品是否有可能残留在 HPLC 系统内，对后面样品检测造成影响？

---	验证要求	依据
初次验证	专属性	---
方法确认	需要	缺乏信息
方法转移	需要	实验室条件

风险 11：分离过程是否稳定，同样条件下，每次都能得到一致的结果？

---	验证要求	依据
初次验证	进样重复性	---
方法确认	需要	实验室条件
方法转移	需要	实验室条件

获取图谱

风险 12：波长选择是否能够保证在杂质 B 紫外吸收的波峰或者平坦处进行检测？

---	验证要求	依据
初次验证	专属性	---
方法确认	否	方法特性
方法转移	否	方法特性

风险 13：溶剂峰是否干扰杂质 B 的峰？运行时间是否够长，保证杂质 B 的检出？

---	验证要求	依据
初次验证	专属性	---
方法确认	需要	实验室条件
方法转移	需要	实验室条件

读取原始数据

风险 14：基线噪音的存在，会在多大程度上影响检测能力？

---	验证要求	依据
初次验证	检测限/ 定量限	---
方法确认	需要	实验室条件
方法转移	需要	实验室条件

计算		
风险 15: 物质浓度与信号响应值存在函数关系。哪一段函数关系, 最方便操作?		
---	验证要求	依据
初次验证	线性	---
方法确认	否	方法特性
方法转移	否	方法特性
风险 16: 上述线性浓度范围, 能否同时保证溶液配制过程和分离过程正常工作?		
---	验证要求	依据
初次验证	范围	---
方法确认	否	方法特性
方法转移	否	方法特性
风险 17: 对上述系统误差的来源进行控制后, 在实验室正常变动范围内 (不同仪器、不同人员、不同批次溶液、不同天), 是否每次都能得到一致的结果?		
---	验证要求	依据
初次验证	中间精密度	随机误差
方法确认	需要	随机误差
方法转移	需要	随机误差

表 1 - 杂质 B 检测方法的验证需求

验证项目	初次验证	药典方法确认	方法转移
样品有效期	▲	▲	X
专属性	√	√	√
检测限/定量限	√	√	√
线性	√	X	X
准确度	√	√	▲
范围	√	X	X
进样重复性	√	√	√
中间精密度	√	√	√
耐用性	√	▲	▲
滤器研究	√	√	X
溶液稳定性	√	√	X

√: 需要

X: 不需要

▲: 可能需要

专用产品线的清洁验证

清洁的目的是除去污染。清洁验证不仅要证明清洁方法可以去除污染物，而且要证明，清洁方法本身不会带来污染。

专用线指只生产一个产品，或者同一产品不同规格，或者共用线上同一产品生产的连续生产。

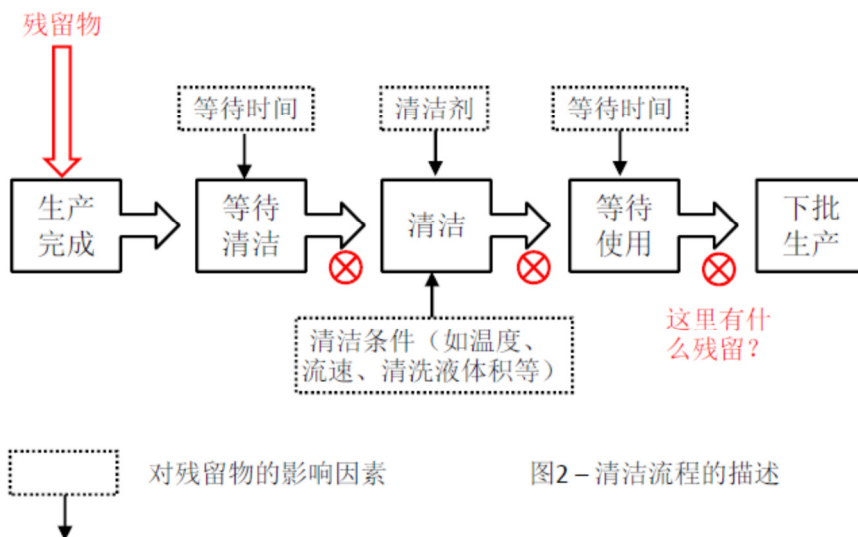


图2 - 清洁流程的描述

● 风险 1: 正常生产中，有可能生产后无法立即清洁（例如等到下一个班）。那么在等待的这段时间内，待清洁的物质有没有可能降解成其它物质，或者有没有可能随着水分的蒸发，清洁变得更加困难。

验证需求: **最迟清洁时间**

● 风险 2: 清洁剂在清洁条件下（例如一定温度和时间），是否会造成待清洁物的降解。如果降解的话，降解物是否被有效除去。

如果清洁后设备不烘干，或者有些部分不能烘干，那么清洁剂的残留与待清洁物长期接触（例如清洁有效期内），是否会形成其它杂质。如果形成杂质，那么需要评估目前清洁方法或者清洁有效期的适当性。

验证需求: **待清洁物的降解可能性**（这个研究通常通过小试完成）

● 风险 3: 清洁剂是否会造成残留，残留量是否足以构成污染。

验证需求: **清洁剂的残留**

● 风险 4: 虽然是专用线，上一批物质 A 的残留通常不认为是对下一批物质 A 的污染。但是从批次完整性考虑，还是应当控制残留量。

验证需求: **待清洁物的残留量**

专用线的残留量限度是没有法规指南的；欧美国家法规检查员在这一方面的意见也不统一，有的可以接受目视清洁作为残留限度，而有的坚持要检测结果（因为“目视清洁”受人员影响太大）。通常我给客户的建议是每个生产步骤不超过下批批量 0.1% 的残留限度。

从这个角度而言，清洁剂是否能够溶解待清洁物，对于清洁过程并不是关键问题。清洁过程并不是简单的先溶解、后冲洗，而是一个复杂的物理过程；我见过使用不溶解残留物的清洁剂，最后检测残留限度仍然合格的情况。另外，某些残留物溶解后会降解，反而会造成更大的污染风险。因此，在选择清洁方法的时候，最好进行一个小试，将大量残留物喷洒到模拟的设备表面，然后使用清洁方法清洗，观察残留是否降到限度以下。这是清洁方法开发和风险分析的重要步骤。

- 风险 5：清洁后，设备有可能受到污染，尤其是微生物污染。

验证需求：**清洁有效期**

通常通过清洁后和清洁有效期结束后的微生物水平比较，进行评估。

我不建议客户做微生物回收率。由于微生物本身的活动特性，清洁验证取样方法的微生物回收率变异太大。我们得到微生物检测数据，看的是趋势，并结合生产条件，进行微生物污染产品的风险分析。

结论

上面分析过程得出的验证需求，与法规指南的要求是一致的^[1, 2, 3, 4]。

掌握这种分析方法，可以帮助我们理解法规指南为什么有这样的验证要求，更好地理解和控制验证对象的变异来源，节省宝贵的验证资源。上述风险分析过程的记录，不仅是良好的培训资料，而且在法规检查过程中，会给检查员留下深刻印象，有利于获得良好的检查结果。

【参考文献】

- [1] FDA - CDER, Reviewer Guidance - Validation of Chromatographic Methods, 1994。
- [2] PA/PH/OMCL (05) 47 DEF, Validation of Analytical Procedures, 2005。
- [3] USP36-NF31, General Chapter <1226>, Verification of Compendial Procedures, 2013。
- [4] USP36-NF31, General Chapter <1224>, Transfer of Analytical Procedures, 2013。