

API 生产中的清洁验证

近些年来，官方（包括欧盟、美国 FDA）对 API 的生产要求不断增加。在这种情况下，用于生产化学产品中活性药物成分的工厂，在进行清洁时，需要根据经过验证的程序来进行清洁。这也在相应的法规及近些年的检查中，有了进一步的加强，特别是对于生产多产品及共线生产的工厂。

本篇中文文章翻译德恩技术专家 Jörg Koppenhöfer 编写的《API 生产中的清洁验证》，并已发表在 ECV（Editio Cantor Verlag）杂志。

概括

我们知道，在清洁验证期间，必须提供书面证明，证明定义和描述的清洁程序以可重复的方式实现预期的目的。验证的成功执行，允许在日常操作中，清洁后的取样和分析检查可以减少到必要的最低限度。而关于残留测定验收标准的定义，GMP 指南(第 3 章和第 5 章以及附录 15)的修订，以及 EMA 及 PDE 指南中提供的新的方法，在此仅简要介绍。

本文主要目的是介绍在化学工业中多产品共线生产活性物质工厂的清洁验证项目的系统实施，并提出关于验收标准确定的方法。

1. 指南

说到“清洁验证”这个主题，有很多可供参考的文献^[1-4]。很多地方也都提到过清洁验证，但是没有具体说明如何进行清洁验证。其中在这些文献中，PIC/S（PI 006-3）指南^[1]是特别有帮助的。在本篇文章，我们也会多次提及该文件，因为它包含了最详细的指南，特别是可供参考的指南。

在 PIC/S 指南文件(PI 006-3)中可以看到清洁验证的原则说明，详情见 7.1.2、7.1.3 和 7.1.4 中^[1]。需要特别提及的，在这些内容中强调在清洁验证成功的情况下，日常操作中可以不取检测。更多的信息可以查看 EU GMP 指南附录 15^[6]。但是本篇内容，在 PIC/S 指南文件中被提及的更加详细。

2. 清洁验证项目的基本程序原则

清洁验证过程项目可分为 6 个步骤，具体如下图 1，且图中每步内容在本文第 3-8 部分做了详细描述。

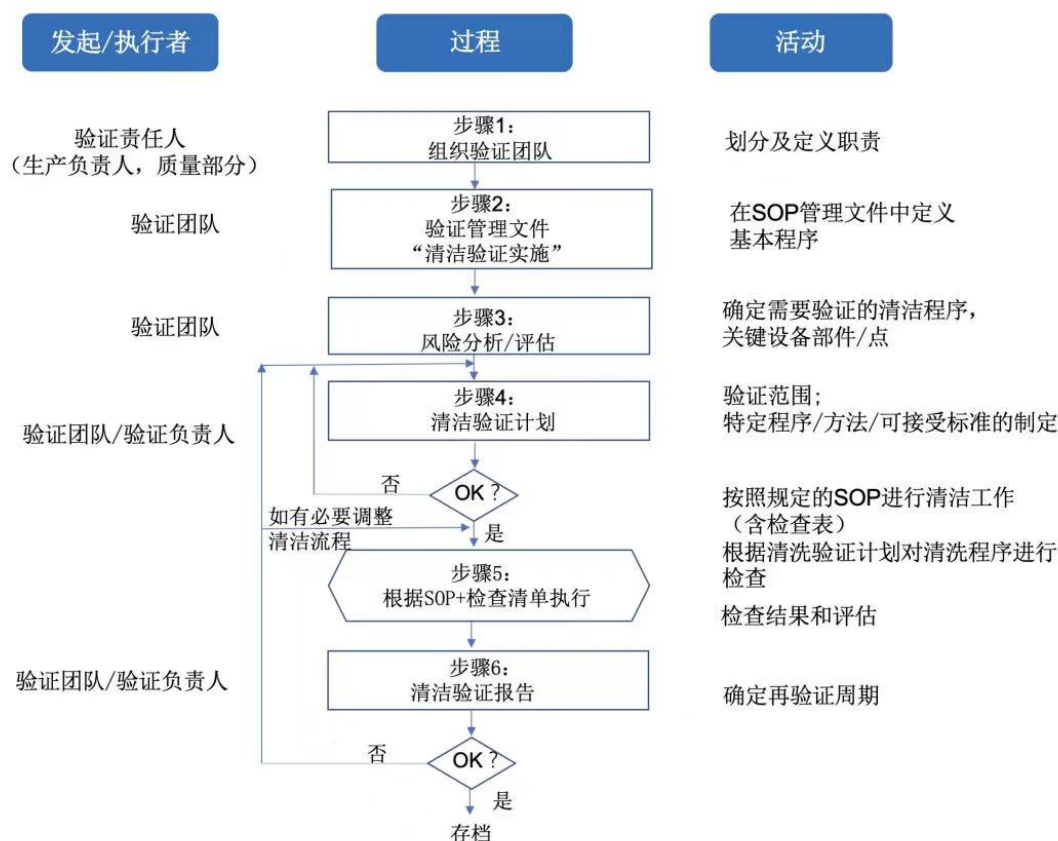


图 1 清洁验证项目的过程

3. 步骤 1：验证团队

3.1 责任明确

在每个清洁验证项目开始前，组建验证团队并清楚地划分和定义职责。

第一步：明确产品责任问题。根据 GMP 指南/法规，生产管理部门和质量部门(Quality Unit, QU)的管理部门对产品负主要责任。双方负责确保所有 GMP 要求—包括与生产设施的清洁有关的要求，且在实际运行中得到实施。因此，至少生产管理部门和质量部门共同负责整个验证过程。

在原料药工厂，管理生产的任务通常由相应的工厂经理承担(见 PI 006-3， 2.7.1^[1])。这些规范通常已经在更高级别的验证主计划中制定。

3.2 验证团队组建

为了管理验证项目的复杂任务，组建验证团队的在实践中是非常有效的。生产管理部门和负责质量的管理部門共同确定负责验证中的特殊任务的人员。对于复杂的项目，项目协调人员在实践中证明是成功的。在验证团队中，需要进一步确定即将进行的验证项目的范围和如何具体实施。验证的所有结果都在团队中讨论和评估。验证团队最终决定验证项目是否成功的。除了验证小组的负责人，以下是小组成员，通常包括质量部门的负责人或其代表。所有的团队成员都被分配了角色和任务(例如，可以参考下文的内容，以及 PI 006-3,2.7.4^[1])。

具体来说，活性物质区域的清洁验证项目必须定义并记录以下职位和职责：

- 负责执行清洁工作的人员(如：工厂领班、管理操作员)
- 负责清洁过程 GMP 符合性文件的人员(如：工厂操作人员)
- 负责进行样品和样品分析评估的人员(如：实验室人员)
- 负责编制结果和准备报告的人员(如：项目协调员或验证专员)
- 质量保证部门负责人(如：质量部代表)

这些说明通常在上一级验证主计划中制定。

4. 步骤 2:概念 SOP“执行清洁验证”

在下一步中，验证团队必须确定，在公司是否有一个生效的概念 SOP 文件指导清洁验证的开展。这个 SOP 必须描述清洁验证的基本程序，且通常与工厂的所有相关人员协调/培训，以确保程序理解一致避免误解。如果没有这样的 SOP，则必须先起草并批准(见 PI 006-3, 4.1.1^[1])。

概念 SOP 应该概括地描述基本程序。如图 1 所示的流程图可能会有所帮助。此外，清洗验证所必需的所有文件/表格/表格模板以及这些文件所要求的内容都应该在 SOP 中定义或创建。

基本上，标准或资料应提供：

- 清洗验证过程的一般程序
- 实施“清洁”风险分析/风险评估的架构、内容和说明
- 清洁验证计划的架构和内容
- 清洁验证必须的文件，包含清洁工作的基本实施要求
- 清洁验证报告的架构和内容

5.步骤 3:实施“清洁”风险分析/风险评估

风险分析/风险评估“清洁”是定义特定设备清洁要求的中心文件。验证团队收集并评估所有关键点。应作出下列考虑并记录在案：

- 工厂(工厂的部分)需要清洁的设备的记录
- 识别工厂/设备中处理的产品/污染物
- 确定在工厂/设备中处理的产品/污染物
- 记录工厂/设备使用的清洁程序/步骤
- 识别产品和设备组(括号法，最坏情况考虑)
- 验证范围的最终确定(见 PI 006-3, 2.5.6 和 7.3.4^[1])

5.1 待清洁工厂/设备的记录

列出整个工厂/设备的清单，并规定工厂每个部分的清洁要求。应注意并记录以下几点：

- 是否多产品共线工厂？哪些工厂/设备用于哪些产品的生产？

- 哪些生产工艺是在密闭方式下运行？污染物是否可以从外部进入工厂？清洁的关键点在哪里？
- 清洁关键点（如死角、难以清洁的区域）。文件可以在图纸的帮助下完成(例如 P&I 管道图，施工图)
- 哪些需要进行进一步的清洁？是否有 CIP/SIP 要求？
- 哪种情况下使用哪种清洗剂？

5.2 工厂/设备中处理的产品/污染物的记录

所有可能的输入的物料、产品、清洁剂和其他可能进入各自系统部件的物质也记录在一个清单(物质清单)中。以下几点必须遵守并记录在案:

- 产生了哪些物质（输入材料、降解/衰变产物、副产物、介质）？
- 物质的特性（如毒性、功效、溶解度、药效）
- 关键的质量标准（微生物、微粒要求）
- 使用了哪些清洁剂（它们本身可能是污染物吗？它们有什么特性）？

5.3 工厂/设备的清洁程序/步骤的记录

验证小组对整个工厂的所有清洁步骤或清洁程序进行编制和评估。这分为关键和非关键的清理步骤。尤其关键的是多产品车间的产品转换的清洗过程，这些都必须经过清洁验证。

5.4 产品和设备组的形成（最坏情况考虑）/括号法

为了减少验证工作,让常规的做法更有意义，尤其是防止活性物质，做出以下注意事项/评估（括号法）来提高效率和节约成本的测量和记录这些风险分析/风险评估(见 PI 006-3, 7.3.5^[1]):

- 设备分组

根据生产设备的最差情况/括号法来减少验证的次数，相应清洗过程的验证结果是否可以转移到其他类似的工厂（类似产品和类似工艺）？这是可能的，如果清洗过程和相应的系统几乎等同(例如：相同的容器)。

- 产品分组

在对要清洗的污染物进行性质验证时，是否有可能划分性质相似的产品组？如哪些产品的清洁工艺一致，选择毒性较高和较难清洁的产品为目标物。

验证必须只对具有最坏特性(最坏情况)的污染物进行。通常，污染物在所用的清洗剂中的溶解度用于这一目的。然而，在某些情况下，毒性也可能是决定性的。验证计划中产品组形成的文件可以进行，例如，根据表 1 列出的物质清单。关于活性物质生物技术生产中的清洁验证“Münsch in Pharm Ind. 07/2018,p.990”这篇文章提供了很好的见解。

5.5 验证范围的最终确定

基于 5.1-5.4 中的考虑结果，最终在关键系统/设备，和关键污染物的基础上得出需要验证的清洁程序/步骤，结果记录在风险分析/风险评估中。

6.步骤 4：清洁验证计划

6.1 关于最关键物质或关键设备部件的清洁程序的验证

在开始制定清洗验证计划之前，必须有清洗待验证清洗程序的 SOP 作为基本前提。这必须清楚地定义和描述如何进行清洗。在清洁程序/步骤明确定义之前，不可能进行验证。理想情况下，在进行清洗验证之前，应该对所讨论的清洗程序进行验证(试运行)。通过划分产品/设备组，可以合理地减少相关的清洁程序(见本文 5.4)。

例如，可以使用清洁清单方式(见 PI 006-3, 7.4.4^[1])来编制清洁程序文件，包括所要进行的活动和所采集的样品。

6.2 制定每个清洗步骤的具体清洗验证计划

根据风险分析/风险评估的结果，验证小组将为每个需要验证的清洁程序/步骤制定清洁验证计划。本计划为每一个单独的工艺/步骤定义了清洗验证的范围，描述了具体的程序，并将测试和抽样计划作为核心要素。验证计划由验证小组发布(见 PI 006-3, pts 7.4.1;7.4.2^[1])。

在测试和抽样计划中，描述了风险分析/风险评估中定义的清洗关键点，并为此定义了指定的测试或抽样点(表 2)。然后可以在这些检查或抽样点进行目视或分析检查。

6.3 清洗验证计划的内容

清洗验证计划的内容应如下(见 PI 006-3, 7.4.1;7.10.1;7.11.1^[1])

表 1：形成产品家族的物质清单

污染	LD50 毒性 大鼠	在清洁剂中的溶解度 (g/l)	清洁有效性	活性物质 含量	治疗剂量	可清洁度 (定性)	评论
中间产品							
原料							
降解物							
其他成分							
清洗剂							

表 2：示例-取样和检验计划(作为清洗验证计划的一部分)

测试/采样点的位置	测试方法	评论	验收标准	结果	目标物
1: 容器底部	GC 分析	初步的产品	<0.1%=1000 ppm		
1: 容器底部	蒸发残留物	最终清洗	<0.1%=1000 ppm		
2+3: 容器圆顶	目视	拆开盖子	目视干净		

- 验证的具体程序说明(程序说明、执行情况和参考有效的清洗 SOP)
- 使用的清洗剂的说明
- 测试/抽样计划规范，包括:采样地点和时间以及测试点的描述(示例见表 2)
- 规范万一发生偏差的后续措施清单，在验证期间做好准备
- 测试方法的确定/评估
- 成功验证的方法和相关的接受标准，以下通常被认为是基本的验收标准:

—10 ppm 标准(max.初产物浓度在下游产品中)

—1/1000 剂量标准(max.清洗介质中的残留物浓度(产品或清洗剂)，取决于最低剂量和安全限定)

—目视检查-无限定值，但作为程序有效性验收标准的一部分(参考^[9,10])

—LD50 标准(max.在后续产品的每日剂量中 LD50 的一小部分)

—允许日暴露量(PDE)标准根据具体的科学数据，特别是毒理学数据(见本文 6.5)来确定残留浓度

验收标准的确定应视个别情况而定，并应得到科学论证。在任何情况下都必须进行目视检查。所使用的分析方法和程序必须经过验证，并具有足够的灵敏度来检测残留物和污染物。

关于洁净度验证计划内容的其他参考信息可以参考文末参考资料^[9,10]。

6.4 擦拭测试作为一种测试方法的问题(实践)

表面擦拭试验(擦拭试验)作为一种合适的检测方法在法规中有明确的描述。为了检测可溶性和不溶性杂质(见 PI 006-3, 7.8.2^[1])，它应与最终淋洗的检查结合使用。

然而，在原料药领域，在实践中使用擦拭试验在很多情况下是有挑战的，特别是由于棉签试验的取样和验证是困难的。

这种测试在技术上通常是可行性不高，因为在许多情况下，实际的关键点是无法接近或难以接近的(例如，由于设备的尺寸)。这就提出了一个问题，即擦拭法测试是否必须，也能否用于大型的 API 工厂。

然而，最终淋洗水中残留物的测定并非总是适用于所有情况，因为这些测试的结果受到以下因素的显著影响：

- 在清洗过程中，附着在设备壁上的残留物是否能很容易地清除，残留物在清洗介质中是否溶解良好。因此，必须对所选清洗介质的溶解行为进行精确的研究，例如，溶剂数量、温度和暴露时间等参数也必须考虑在内。这些调查的结果必须纳入到相应的清洗过程的开发中。
- 在实践中，使用各种分析方法(如蒸发残留、总有机碳、...)结合目视控制(如光学、内窥镜)对最终漂洗物进行分析常常被证明在活性物质领域是成功的。

6.5 作为验收的 PDE 值标准(实践)

新法规明确推荐 PDE 值用于确定药品纯化验证的可接受标准^[5,6]。这个值应该是一个极限值，在此极限值下，终身接触不会对患者造成任何伤害。包括人类和动物的临床和非临床研究，考虑到最有害的影响(副作用)、剂量、毒理学和其他要点。

在计算中，首先定义了一个“剂量描述”：

- **NOAEL**(No Observed Adverse Effect Level, 无可见作用剂量水平)

即一种物质的最高给药剂量，且未发现需要治疗的显著增加(无不良反应)。这包含在下面的计算公式中(见图 2)。

$$PDE[mg/d] = \frac{NOAEL[\frac{mg}{kg \cdot d}] \cdot BW[kg]}{F1 \cdot F2 \cdot F3 \cdot F4 \cdot F5}$$

图 2: PDE 值计算公式(来源:EMA 指南^[5]和 ICH Q3C^[7])

NOAEL (No Observed Adverse Effect Level, 无可见作用剂量水平)

BW (body weight, 体重): 设定: EMA: 50 kg; FDA: 60 kg。

F1 to F5: 补偿风险的安全因素。

F1: 考虑种类之间差异的系数: 值从 1-12; 不同的人/动物, 例如: 大鼠: 12; 狗: 2; 人类: 1。

F2: 考虑到人个体差异: 人/人不同: 一般设定为 10。

F3: 验证周期: 值从 1-10, 例如: 短期, 少于 4 周: 用 10。

F4: 毒理严重性: 值从 1-10; 影响的严重程度: 高毒理, 用 10。

F5: 其他影响因素: 值从 1-10; 变量: 如果 LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level, 最低观察反映剂量) 被用来代替 NOAEL: 用 10。

一旦确定了上述所有参数, 并可以追溯到科学考虑(如毒理学), 就可以计算出 PDE 值^[5-8]。

从实践中评价 PDE 的价值

PDE 值必须根据新指南/法规的规范计算, 并在清洗验证(风险评估或计划)文件中说明。然而, 由于计算中包含了許多修正因素, 并且有时对许多边界条件作了相当武断的假设, 它不再代表当初引入可接受准则(留数极限值)确定的简化和科学改进。尽管 F4 因子, 即毒理学, 是一个非常重要的变量, 但在实践中, 如果不了解所有涉及的边界条件和相关的校正因子(如应用时间), 往往无法进行有意义的计算。因此, 利用专家的知识是绝对必要和迫切建议的。这种方法给大多数 API 生产商带来了严重的问题, 因为很多数据在清洗验证项目开始时通常尚不知道, 而且不能特别确定。因此, 一个有意义的计算是不可能的, 这反过来又削弱了这种方法的科学性。

然而, 到目前为止, 在实际应用中, 许多情况下(大约 85%), 企业普遍采用 1/1000 剂量标准作为验收标准, 因此对先前建立的验收标准程序没有实际变化。具体 PDE 的计算和记录, 规则可参照 ([9], p.1074ff.)。

7. 步骤 5: 在验证期间进行清洗

根据本指导书的清洁验证计划、清洁 SOP 或清洁检查表, 对每个待验证流程进行清洁验证。为此目的, 通常连续进行 3 次清洗并记录在案。必须确保始终遵循清洁规程(SOP/检查表)。偏差被记录在检查表中, 并被记录下来。这样, 如果不满足验收标准(偏差), 就可以采取适当的措施。这些偏差在清洁验证报告(见 08)中进行了评估, 并规定了相应的措施。

成功完成清洁操作规范/检查表是成功清洁验证运行的先决条件。这还包括执行清洁步骤的人员的日期和签名(见 PI 006-3, 7.4.5; 7.4.6; 7.8.1)。

8. 步骤 6: 准备清洁验证报告

在清洁验证报告中, 最终对每一次验证运行(中间报告)或所有 3 次验证运行(整体报告)的结果和偏差进行汇总。这可以使用表格/图表或类似的工具来完成。如果由于最坏情况的选择(例如半年)导致两次验证之间有较长的时间间隔, 则应起草阶段性报告。

在清洗验证运行期间可能发生的偏差是:

- 没有按照规定的 SOP/检查表进行清洗
- 样品未在指定地点采集或被遗忘
- 取样的分析结果超出了验证计划中规定的接受标准
- 执行清洗或评估样品的文件不完整(例如缺少原始数据)。

这些可能的偏差将在报告中加以考虑和评估，并在必要时确定具体的后续措施。如果这是一个临时报告，这些后续措施可能已经适用于下一次验证运行。这些措施可以是：

—人员必须接受相应的培训

—由于技术问题，验证运行必须重复

如果发生以下关键偏差，通常假设必须重复整个验证(全部 3 次)，以证明清洗过程的有效性。需要重新考虑/修改/适应测试方法的验收标准。

测试方法的标准

- 修改重要步骤的清洗程序(SOP)
- 修改/修改清洗验证计划，包括程序、关键点和验收标准

在执行通常成功的 3 次清洁验证后，所有重要的结果需再次总结在一份总的报告中，并评估清洁程序的有效性。这一评估是重要的，应在报告中明确提到。此外，需要给出再验证清洗程序的信息。通常需要开展再验证的情况，例如，在发生加大的工厂改造或清洗过程的变更时。

验证报告由生产管理部门和质量部门的管理部门批准(对于报告，详见 PI 006- 3, 7.4.3;7.3.6;7.3.8;7.5.1^[1])。

9. 结论

如果在实践中，可以根据上述解释形成设备组和产品系列(括号法/最坏情况考虑)，那么在原料药以及制药领域实施清洁验证可以特别高效和节约成本。这些措施与结构化的方法结合可以大大减少验证工作。

因此，可以通过形成设备库来清洁。如果所有设备在设计 and 产品占用方面没有显著差异，也可以通过在该库中执行单个容器的清洗验证来总结在该类设备中的单个容器的清洗验证。

同时，可通过形成产品系列“水溶性物质”，引入并验证针对特定工厂的单一清洗工艺，以去除工厂中处理的最难清洁的水溶性物质。这样就不需要建立和验证许多不同的清洗程序。

这里介绍的在活性物质工厂进行的清洗验证方法已经在许多实践中得到了证明。一个清晰的结构和详细的计划可以极大地提高整个清洗验证项目的效率。

关于该文章原文（德文），请[点击这里](#)进行阅读。

参考文献

[1] PIC/S Pharmaceutical Inspection Convention "Recommendations on ... Cleaning Validation. PI 006-3; Sept. 2007.

[2] ICH International Conference on Harmonisation "Good Manufacturing Practice Guide

for Active Pharmaceutical Ingredients". ICH Q7. Nov. 2000.

[3] FDA Guide of Inspections of Validation of Cleaning Processes, Jan. 2006.

[4] ZLG Aide Memoire "Inspection of Validation and Qualification in Pharmaceutical Manufacturing and Quality Control", Chapter 7.

[5] EMA/2012: "Guideline on Setting Health Based Exposure Limits for Use in Risk Identification in the Manufacture of Different Medicinal Products in Shared Facilities (in force since 01.06.2015).

[6] EC GMP Guideline 2015, Annex 15 (Chapter 10.6).

[7] ICH Q3C (R5)/2006 on Impurities: "Guideline for Residual Solvents".

[8] VICH GL18, App.3/1999-Rev.I: "Residual Solvents in ... Active Substances and Excipients.

[9] Allhenn D, Anhalt E. Selection of acceptance criteria for the cleaning validation of multipurpose plants. A position paper of the Pharmaceutical Technical Committee in the BAH. Pharm Ind. 2015; 77(7):1074-80.

[10] Anhalt E. Cleaning validation. Visible clean or analytical detection. Pharm Ind. 2016; 78(1):96-8.

[11] Münsch D. Cleaning validation in biotechnological drug production. Pharm Ind. 2018; 80(7):987-96.