

中国药典 2020 年版 9205 药品洁净实验室微生物监测和控制指导原则 解读及探讨

宣泽, 江志杰* [北京市药品检验研究院(北京市疫苗检验中心), 国家药品监督管理局仿制药研究与评价重点实验室, 北京 102206]

摘要: 中国药典 2020 年版 9205 药品洁净实验室微生物监测和控制指导原则要求对于洁净室相关洁净参数的分析方法、日常测试操作及管理流程有着重要价值。本文通过与中国药典 2015 年版的分析比较, 对比国内外相关标准规定, 从检测项目、项目要求细节和具体操作执行等方面, 并结合日常检验工作经验, 对通则中的关键指标进行重新评估, 并提出完善项目或新增项目的建议, 为下一版药典指导原则的修订提供参考。

关键词: 中国药典; 美国药典; 药品洁净实验室; 微生物监测; 指导原则

中图分类号: R953 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)16-2290-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223288

引用本文: 宣泽, 江志杰. 中国药典 2020 年版 9205 药品洁净实验室微生物监测和控制指导原则解读及探讨[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(16): 2290-2294.

Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition 9205 Guideline, Microbiological Monitoring and Control in Pharmaceutical Clean Laboratories Interpretation of the Guidelines and Discussion

XUAN Ze, JIANG Zhijie* (*Beijing Institute for Drug Control, Beijing Center for Vaccine Control, NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drugs, Beijing 102206, China*)

ABSTRACT: The Chinese Pharmacopoeia 2020 edition 9205 guideline requirements for microbiological monitoring and control of pharmaceutical clean laboratories has an important value for the analysis methods, daily test operations and management processes of cleanroom-related clean parameters. By analyzing the updated comparison with the 2015 edition, comparing the relevant domestic and international standard regulations, from the detection items, details of project requirements and specific operational implementation, and the results of daily inspection work experience, the key indicators in the general rules were re-evaluated and proposed to improve the project or add new items to provide reference for the next edition of the pharmacopoeia guidelines revision.

KEYWORDS: Chinese Pharmacopoeia; United States Pharmacopoeia; pharmaceutical clean laboratories; microbiological monitoring; guidelines

中国药典四部通用技术要求 9205 “药品洁净实验室微生物监测和控制指导原则” (以下简称“9205 指导原则”) 自 2015 年版首次刊载, 经 2020 年版进一步完善, 已成为药品洁净实验室对微生物监测和控制的首选参考原则, 同时也成为洁净厂房相关参数制订的重要依据, 在行业内对相关的分析方法、日常测试操作或管理流程有着重要价值。但同时, 随着时间的推移, 技术的更迭, 部分内容也有了重新评估的必要, 特别是伴随着疫情的发生, 突发性卫生事件、大流行性传染病等问题对公众健康安全的影响, 微生物监控技术的同步提高需求进一步凸显, 作为药物生产环节中的重要组成部分,

洁净区域相关检测技术的更新具有重要的意义。本文重点关注相关内容在国际药典、标准、技术资料中的更新, 关键指标评价体系的变化, 对比同一参数在不同文件中的规定, 对有可能的变化趋势进行分析和解读, 以提升从业者对监控与质量保障的认识, 提高洁净实验室的质量。

1 各类技术文件对洁净实验室各参数的确认要求

本研究选取 9205 指导原则中的重要参数, 通过与其他药典、标准、技术指南等文献进行横向对比, 以及结合实际工作中遇到的相关问题, 就现版 9205 指导原则的改进可能性进行评估。

9205 指导原则与国外相关文献主要差别:

作者简介: 宣泽, 男, 药师 E-mail: xuanze59@163.com

*通信作者: 江志杰, 男, 硕士, 副主任药师 E-mail: jiangzhijie@126.com

①国外参数要求多从生产需要出发, 现行药典则更侧重于质量控制环节; ②国外对洁净室的要求, 分为级别确认和监测 2 个环节, 两者技术指标有一定差别, 9205 指导原则并未对两者进行区分, 技术指标没有差别。

2.1 洁净分级要求相关内容比较

洁净分级是洁净参数确认的基础, 一般由悬浮粒子的测定值界定, 再根据监测状态等因素进行区分。

最被普遍接受的国际洁净室标准是 ISO 14644-1:2015 “洁净室和相关受控环境第 1 部分: 按颗粒浓度分类的空气洁净度”。其等级名称基于每立方米空气中大于指定尺寸(0.1~5 μm)的颗粒数量, 定义了 1~9 级, ISO 1 是最干净的。ISO 等级 5~8 用于制药行业的无菌产品制造和其他需要控制空气中颗粒物的领域。ISO 没有规定被分类区域的运行状态(静态或动态), 同时未规定所有的粒子数限值。USP 在其通则 1116 “无菌加工环境的微生物控制和监测”中采用了 ISO 清洁度等级。

中国药典、欧洲药典、日本药典使用 A~D 级的字母分类。对于每个等级, 都规定了 $\geq 0.5 \mu\text{m}$ 和 $\geq 5 \mu\text{m}$ 的粒子数限制。并针对静止和运行状态分别设置了对应的 ISO 等级。具体分级对应情况及限值见表 1。

2.2 悬浮粒子相关内容比较

悬浮粒子的监测是洁净分级的基础, 也是洁净控制的核心参数。与总空气悬浮颗粒物相关的被普遍接受的国际洁净室标准是 ISO 14644 “洁净室和相关受控环境”。在 2015 年发布的最新一部 ISO 14644-3:2015(E)中, 更新了采样方法及数据处理方式。首先采样点根据不同面积进行了具体规定, 采样点数目有了较大变化, 同时删除了计算

95%置信上限(upper confidence limit, UCL)的处理方式, 改为使用平均值对结果进行界定。

9205 指导原则药品洁净实验室悬浮粒子的监测参考《医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法》的现行国家标准进行, 取样点的选择和数量、取样量和取样时间参考了 ISO 14644-3:2015(E)中所述方法, 但对结果判定方法是否计算 95%UCL 还是计算平均值缺乏说明。同时取样点选取数目中也缺乏对 156 m² 以上区域的说明。

GB16292—2010 和 GB50591—2010 是中国较常用的洁净标准, 所述方法类似, 在取样点的选择和数量、取样量和取样时间的规定上和 9205 通则及 ISO 14644 有较大差异。前者制订了最小采样量表, 后者则制订了计算公式, 二者均未规定最少采样时间, 总体采样量较 ISO 所规定的采样量小。

各标准对于悬浮粒子的采样方法区别见表 2, GB50591—2010 和 GB16292—2010 所述洁净级别、取样点对应比较见表 3。

2.3 微生物相关内容比较

微生物监测规定“环境浮游菌、沉降及表面微生物监测用培养基一般采用胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA), 培养温度为 20~25 °C, 时间为 3~5 天”, 后药典委员会勘误了“环境浮游菌、沉降及表面微生物监测用培养基一般采用胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA), 培养温度为 30~35 °C……”, 培养时间仍为 3~5 d, 药品洁净实验室沉降菌的监测照《医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法》的现行国家标准进行; 浮游菌的监测照《医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法》的现行国家标准进行, 上述方法对于培养时间要求“不少于 2 天”^[1-2]。

USP44-NF35 <1116>中则建议在 20~35 °C 培养不得少于 72 h。具体收载差异见表 4。

表 1 洁净分级方式与界定值比较^[3-4]

Tab. 1 Comparison of clean classification methods and defined values

粒径/ μm·m ⁻³	ISO 级别	ISO	USP	级别	欧洲药典		日本药典		中国药典	
					静态	动态	静态	动态	静态	动态
≥ 0.5	5	3 520	3 520	A	3 520	3 520	3 520	3 520	3 520	3 520
≥ 5		/	/		不适用	不适用	20	20	20	20
≥ 0.5	6	35 200	35 200	B	3 520	352 000	3 520	352 000	3520	352 000
≥ 5		293	/		不适用	2 900	29	2 900	29	2 900
≥ 0.5	7	352 000	352 000	C	352 000	3 520 000	352000	3 520 000	352 000	3 520 000
≥ 5		2 930	/		2 900	29 000	2 900	29 000	2 900	29 000
≥ 0.5	8	3 520 000	3 520 000	D	3 520 000	/	3 520 000	/	3 520 000	不做规定
≥ 5		29 300	/		29 000	/	29 000	/	29 000	不做规定

表 2 几种主要的悬浮粒子采样方法比较

Tab. 2 Comparison of several major suspended particle sampling methods

项目	9205 指导原则 ^[5]	ISO 14644—1:2015(E)	GB16292—2010 ^[6]	GB50591—2010 ^[7]
取样点	按测点数表取样, 该表参照 ISO 14644 制订, 未提供 156 m ² 以上数据, 未提供计算公式	按测点数表取样, 并提供计算公式	面积开方取点, 或按最少采样点数目表取点, 该表同《洁净室施工及验收规范》, 仅根据级别的不同表述做相应调整	面积开方取点, 或按测点数选用表取样。(见表 3)
取样量	最低取样量/L=[20/相关等级规定的最大被考虑粒径之等级限值(n/m ³)]×1 000	最低取样量/L=[20/相关等级规定的最大被考虑粒径之等级限值(n/m ³)]×1 000	按最小采样量表取样。根据目标粒径和洁净级别的不同, 2.83~8.5 L 不等	按公式取样: 最小采样量=3/级别浓度下限
取样时间	取样时间≥1 min	取样时间≥1 min	无	无
结果判定	未明确结果数据处理方式	各取样点测量的平均粒子浓度(每立方米的粒子数)不超过表格规定的浓度限值	全部采样点的悬浮粒子浓度平均值的 95%UCL 必须不大于规定的级别界限, 即 95%UCL≤级别界限	按公式计算室平均含尘浓度和各测点平均含尘浓度的标准误差

表 3 GB50591—2010 和 GB16292—2010 所述洁净级别、取样点对应比较

Tab. 3 Clean level, sampling points corresponding to the comparison between GB50591—2010 and GB16292—2010

GB50591—2010					GB16292—2010				
面积/m ²	≥5 级	6 级	7 级	8~9 级	面积/m ²	100	10 000	100 000	300 000
<10	2~3	2	2	2	<10	2~3	2	2	2
10	4	3	2	2	≥10~<20	4	2	2	2
20	8	6	2	2	≥20~<40	8	2	2	2
40	16	13	4	2	≥40~<100	16	4	2	2
100	40	32	10	3	≥100~<200	40	10	3	3
200	80	63	20	6	≥200~<400	80	20	6	6
400	160	126	40	13	≥400~<1000	160	40	13	13
1 000	400	316	100	32	≥1 000~<2 000	400	100	32	32
2 000	800	623	200	63	≥2 000	800	200	63	63

表 4 沉降菌、浮游菌采样量、采样时间、培养温度、培养时间比较

Tab. 4 Comparison of sampling volume, sampling time, incubation temperature and incubation time for sinking bacteria and planktonic bacteria

标准	9205 指导原则	GB50591—2010	GB16292/16293—2010	USP44-NF35<1116>
取样时间	浮游菌	100~1 000 L	100~1 000 L	≥1 m ³
	沉降菌	0.5 h	30 min	4~5 h
培养温度/°C	30~35	35~37	30~35	20~35
培养时间	3~5 d	24~48 h	≥2 d	≥72 h

2.4 物理参数中收载情况比较

物理参数项目中, 9205 指导原则中未规定噪音、照度、自净时间的描述, 《洁净室施工及验收规范》(GB50591—2010)则均有描述。

同时在高效过滤器扫描项中, 9205 指导原则仅列举了 D3(粒子计数器法)一个方法, 《洁净室施工及验收规范》附录 D 高效空气过滤器现场扫描检漏方法描述了 2 种方法: D2 光度计法和 D3 粒子计数器法。

基于结果的准确度和方法的可操作性, 一般选用 D2 为检漏方法。建议修改或增加该方法以满足实际需求。

同时, ISO 14644-3:2019 中对于检出泄漏超出上游粒子浓度数的 0.01% 时, 则认为其超出允许最大穿透率。但是, 对于完整效率 ≥99.95% 且 <99.995% 的过滤器系统, 可接受标准为 0.1%。

但 GB50591—2010 中规定对于光度计检漏法确认过滤器局部渗漏的标准透过率为 0.01%。前者更符合实际确认需求, 建议增加相应条款。

USP44-NF35<1116> 没有对具体项目进行说明, 仅泛泛说明应参考 ISO 14644 进行确认。

ISO 14644-3:2015(E) 中亦没有对噪音、照度的描述。

各标准对于物理参数的收载见表 5。

表 5 其他物理参数收载情况

Tab. 5 Loading of other physical parameters

参数	9205 指导原则	GB50591—2010	ISO 14644-3:2015(E)	USP44-NF35<1116>
风量、风速	附录 E1 风量和风速的检测	附录 E1 风量和风速的检测	4.2.2 气流测试	Clean environments should be certified as described in ISO 14644 series in order to meet their design classification requirements(洁净环境应按照 ISO 14644 所述认证, 以满足其设计分类要求)
静压差	附录 E2 静压差的检测	附录 E2 静压差的检测	4.2.1 压差测试	
温湿度	附录 E5 温湿度的检测	附录 E5 温湿度的检测	4.2.5 温度测试 4.2.6 湿度测试	
噪音	无	附录 E6 噪声的检测	无	
照度	无	附录 E7 照度的检测	无	
自净时间	无	附录 E11 自净时间的检测	4.2.4 自净时间	
气流组织	附录 E12 气流的检测	附录 E12 气流的检测	4.2.3 气流方向和可视化	
高效过滤器 检漏	附录 D3 高效空气过滤器现场 扫描检漏方法	附录 D 高效空气过滤器现场 扫描检漏方法 D1 原理 D2 光度计法 D3 粒子计数器法 D4 检漏气溶胶的发生	4.2.7 已安装过滤器系统泄漏测试 (使用光度计测试)	

3 评估结果

针对以上相关比对内容, 以及实际工作中遇到的问题, 提出修订建议。

3.1 明确适用范围

现 9205 指导原则表述适用于“洁净实验室环境监控”, 缺乏对于生产区的指导意见。在条款层面, 9205 是和 ISO 14644 接轨的一个产物, ISO 14644 并未区分洁净生产区和洁净实验室。在实际应用层面, 可否扩大适用范围, 明确其是否同样适用于洁净生产区, 对于指导药厂整体质量保障有积极意义。

3.2 明确监测依据

对于首次使用的药品检验洁净用洁净室, 洁净级别确认和日常环境监测对应的标准建议分开, 予以明确。洁净级别确认, 可以参考《洁净室施工及验收规范》, 可以更好地评估洁净室的性能。

3.3 明确定义

如关于设施、设备的定义。9205 指导原则中表 1A 中所示: “空气流速 0.25~0.50 m/s(设备)和 0.36~0.54 m/s(设施)”, 这个设备和设施分别是什么, 未有明确定义。

可否使用枚举方式如: “设备如隔离器、安全柜、洁净工作台, 设施如层流罩”对定义范围进行明确。

3.4 完善现有方法

3.4.1 关于悬浮粒子结果数据判定方式 建议参考 ISO 14644-1:2015(E), 结果判定方式为各取样

点测量的平均粒子浓度(每立方米的粒子数)不超过规定的浓度限值。9205 指导原则项下悬浮粒子监测方法内容部分, 其洁净室最少取样点数量主要依据参照洁净室及相关控制环境-第一部分(ISO 14644-1:2015), 而具体监测方法则参考国标《医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法》(GB/T 16292—2010), 二者之间的主要矛盾在于: 《医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法》通过计算悬浮粒子平均值的 95%UCL 来确定悬浮粒子浓度, 而洁净室及相关控制环境-第一部分(ISO 14644-1:2015)是通过增加取样点数量来取代 95%UCL 值计算, 通过计算这些取样点悬浮粒子浓度的平均值来确定洁净室的悬浮粒子浓度。这是目前中国药典 2020 版四部通则 9205 部分存在的逻辑矛盾。建议使用增加取样点算平均值的方法来代替现有方法。可以适当增加洁净室面积>156 m², 对应尘埃粒子检测点数量的情况, 参考 ISO 标准。

3.4.2 关于高效过滤器检漏方法 增加《洁净室施工及验收规范》附录 D 高效空气过滤器现场扫描检漏方法中 D2 光度计法。

3.4.3 关于负压的要求 9205 指导原则中“表 1 各级别洁净环境物理参数建议标准及最长监测周期”中对洁净区与非洁净区、不同洁净区的压差要求均有描述。

实际应用中, 企业质控实验室均会设置微生物、无菌及阳性实验室, 根据 GB 50346—2011《生物安全实验室建筑技术规范》要求, 阳性实验室

应保持相对负压^[8]。

3.5 增加适用监测项目

3.5.1 关于噪声、照度、自净时间等缺少的项目 9205 指导原则中没有对噪声、照度、自净时间等项目的描述。ISO 14644-3:2015(E)中对自净时间有描述,对噪声、照度没有描述。《洁净室施工及验收规范》对噪声、照度、自净时间等项目均有描述。

实际应用层面,这几个项目均是空调设备检验、验证中的必要项目,建议扩充。

3.5.2 关于生物安全柜 现生产企业通常会依据功能不同分别设置微生物、无菌和阳性实验室,同时阳性实验室属于生物安全实验室,一般会配备生物安全柜,其中操作面是按照 A 级区域进行确认还是根据生物安全柜相关标准(如 YY0569-2011《II级生物安全柜》)进行确认,或是需同时满足药典要求和生物实验室要求的双重规定,指导原则中可予以明确。

3.5.3 关于紫外灯 在日常工作中发现,药品检验用洁净室里的紫外灯是需要经常使用的,目前没有对紫外灯的灭菌效果进行监测的指标和监测周期,建议可以添加这个指标参数。特别是药品检验用的安全柜紫外灯,应该同时进行灭菌效果评价。工作照度也是关键指标,在日常检测中发现,一般的照明灯,使用 1 年以上就会有照度衰减,建议添加照度指标。

3.6 关于微生物的培养时间

近年来诸多技术文献对于微生物培养时间的要求逐步延长,但较长的工作周期是否可得到相应的实验价值则存疑。建议可通过对比实验对培养时间与培养结果的影响进行分析,如果在日常

监测中,较少的时间即可得到近似的监测效果,可大大提高工作效率。

4 结语

现有的 9205 指导原则体现出更好的针对性和指导性,具有一定优势,在后续修订过程中,可以更好体现 9205 的针对性和对药品检验用洁净室日常维护和使用的指导性,加大与国际通行标准和国内相关法律法规的衔接力度,包括检验方法和参数统一,最大限度完善现有指标体系。药品的生产、质控是一个完整的过程,同样,洁净实验室的设计、建设、使用、检测也应该是一个持续的闭环,重视实验室的日常监测,是实验质量保障的核心因素之一,也可以为后续技术更新提供有效的数据支持,是决定日后达到生产质量上限的微小而有一环。

REFERENCES

- [1] GB 16294—2010, 医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法[S]. 2010.
- [2] GB 50346—2011, 生物安全实验室建筑技术规范[S]. 2011.
- [3] 中国药典. 四部[S]. 2020: 506.
- [4] GB 50591—2010, 洁净室施工及验收规范[S]. 2011.
- [5] USP44-NF35, <1116>Microbiological control and monitoring of aseptic processing environments[S]. 2021.
- [6] ISO 14644-1: 2015, Cleanrooms and associated controlled environments—Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration[S]. 2015.
- [7] GB 16292—2010, 医药工业洁净室(区)悬浮粒子的测试方法[S]. 2010.
- [8] GB 16293—2010, 医药工业洁净室(区)浮游菌的测试方法[S]. 2010.

收稿日期: 2022-09-20

(本文责编: 曹粤锋)