无菌工艺模拟试验指南（无菌原料药）

（征求意见稿）

国家食品药品监督管理总局

食品药品审核查验中心

二〇一六年十月

.目录

[1. 目的 - 1](#_Toc464404638)

[2. 定义 - 1](#_Toc464404639)

[3. 范围 - 1](#_Toc464404640)

[4. 原则 -](#_Toc464404641)1

[5. 无菌原料药生产工艺及模拟范围 - 2](#_Toc464404642)

[6. 模拟试验方案的设计及实施过程要求 - 5](#_Toc464404643)

[6.1. 开展模拟试验的前提条件 - 5](#_Toc464404644)

[6.2. 基于无菌风险的模拟试验方案的设计 - 6](#_Toc464404652)

[6.3. 模拟灌装数量和持续时间 - 11](#_Toc464404662)

[6.4. 容器装量 - 12](#_Toc464404666)

[6.5. 模拟试验方法的选择 - 12](#_Toc464404667)

[6.6. 最差条件的选择 - 13](#_Toc464404677)

[6.7. 模拟试验过程的干预设计 14](#_Toc464404684)

[6.8. 培养与观察 - 17](#_Toc464404684)

[6.9. 环境及监控 - 18](#_Toc464404698)

[7. 可接受标准与结果评价 - 20](#_Toc464404706)

[8. 污染调查与纠正措施 - 20](#_Toc464404711)

[9. 模拟试验的周期与再验证 - 22](#_Toc464404712)

[10. 无菌工艺模拟试验的局限性 - 22](#_Toc464404713)

[11. 术语 - 23](#_Toc464404714)

[12. 参考文献 - 24](#_Toc464404715)

无菌工艺模拟试验指南（无菌原料药）

1. 目的

 为指导和规范无菌原料药生产企业开展无菌工艺模拟验证，充分评价无菌原料药生产过程的无菌保障水平，确保所生产无菌原料药的安全性，依据《药品生产质量管理规范》（2010版）及附录，制定本指南。

1. 定义

 本指南所述的无菌工艺模拟试验，是指采用适当的培养基或介质，模拟原料药生产中无菌操作的全过程，以评价该无菌工艺无菌保障水平的一系列活动。

1. 范围
	1. 本指南涵盖了无菌原料药无菌工艺模拟试验的基本要求、不同工艺模式的特殊要求、试验的基本流程等内容，适用于无菌原料药的无菌工艺验证。
	2. 本指南所述条款是在现有无菌工艺技术基础上提出的相关要求，旨在规范企业开展无菌工艺模拟试验活动。在科学的基础上，鼓励新技术、新设备的引入，以提高无菌原料药无菌保障水平。
2. 原则

 在对无菌生产工艺充分认知和生产经验累积的基础上，应结合工艺、设备、人员和环境等要素定期开展无菌工艺模拟试验，以确认无菌生产过程的可靠性，同时也为企业及时识别风险进而改进无菌控制措施提供数据支持。开展无菌工艺模拟试验应遵循以下原则：

* 1. 以现行药品GMP法规要求为准则，评价无菌生产过程的法规符合性，不符合规范要求的无菌工艺过程，不能通过模拟试验来证实其无菌保证措施的合理性。
	2. 基于无菌工艺设计，对无菌生产过程实施风险评估，识别生产过程风险点以便评估现有控制措施的有效性，评估结果应在试验方案设计时给予考虑。
	3. 基于无菌风险，应充分考虑硬件装备水平与无菌风险的关联性，结合无菌生产过程所涉及到的工艺、设备、人员以及操作时限等因素针对性开展模拟试验，尽可能模拟实际无菌生产全过程，应特别关注“开放”操作、人工干预等高风险过程。
	4. 如生产线有多种无菌生产工艺，应评价模拟试验方案对各无菌工艺过程的适用性。应对有显著差异的无菌工艺过程开展模拟试验，或在综合评价不同无菌生产工艺的基础上，设计模拟验证，以评价每种无菌工艺过程的可靠性。
1. 无菌原料药生产工艺及模拟范围

 无菌原料药的无菌生产工艺通常为：原料药进一步精制和无菌操作的结合，作为无菌原料药生产工艺的开始，多采用除菌过滤或其他除菌技术将物料中的微生物去除，之后采取无菌操作技术的工艺单元，最终获得免受微生物污染的原料药。无菌工艺模拟试验应从第一步无菌操作开始，即经除菌过滤或其他方法获取无菌药液，直至无菌产品完全密封结束。

 与无菌制剂工艺相比，无菌原料药的生产工艺一般更复杂，工艺设备选型呈现出非标化和功能设计差异化等特点。即使是同一无菌工艺过程，因设备选型和系统密闭程度的不同，无菌风险也存在着显著差异。

 目前，无菌原料药常用无菌工艺包括：结晶工艺、冷冻工艺和喷雾干燥工艺。

5.1. 无菌结晶工艺

 典型的结晶工艺流程是从非无菌物料开始，经除菌过滤进入无菌结晶罐内，通过调整物料温度或加入其他溶剂使物料中有效活性成分结晶或沉淀析出，该过程会因控制晶体生长的需要而引入晶种。养晶结束后进入固液分离设备，去除母液获得湿品，必要时对湿品进行洗涤，湿品在固液分离设备内进行干燥或通过辅助密闭系统转移至其他干燥设备内进行干燥，之后根据产品特性和最终质量要求进行必要的整粒（或微粉化），以控制产品粒度大小和分布，混粉也是常用的工艺单元，主要解决产品均一性的问题。最后产品经分装、密封，将产品严封于容器内。

5.2. 无菌冻干工艺

 常见的无菌冻干工艺流程包括：液体物料经除菌过滤得到无菌料液，在无菌防护下使用加料枪将无菌料液注入冻干机托盘内，按照规定程序进行冷冻真空干燥，干燥结束后经除菌级呼吸器释放冻干机内的真空。在无菌防护下打开冻干机门，将干品由托盘转移至无菌料仓内，或在无菌防护下通过真空密闭吸料系统将干品转移至下一工序，干品通常需要整粒和混粉工艺，以得到质量均一的干品，最后经分装、密封，将产品严封于容器内。

5.3. 无菌喷雾干燥工艺

 无菌喷干工艺适用于耐热性好的无菌原料药，工艺流程通常包括：液体物料经除菌过滤后持续稳定地注入干燥塔内，在无菌高压空气的作用下瞬间雾化成液滴，并与流动的无菌热空气发生传质传热，液滴因水分迅速蒸发而变为粉末状干品，获得的干品经气固分离器收集至无菌料仓内，或直接分装至最终市售包装内。产品在料仓内可实现进一步混粉操作，随后经分装机完成干品的分装、密封等过程，将产品严封于容器内。

5.4. 密闭与开放系统

 通常无菌工艺由一系列的无菌单元操作组成，单元操作分为“密闭”或“开放”系统，采用“密闭”系统可更好的保障无菌水平。关键的无菌操作如采用了“开放”系统，宜使用隔离操作技术进行无菌防护。模拟试验应包括无菌工艺的各单元操作系统以及各单元间的转运系统。

5.4.1. “密闭”系统

 “密闭”系统是通过物理隔离的方式，阻止环境中微生物进入系统内部，保护药品免受外界的污染。因“密闭”系统设计上的优越性，在无菌操作过程提供了可靠的无菌保护措施。企业进行无菌原料药工艺设计时，应尽量考虑采用“密闭”系统的可行性。“密闭”系统至少具备以下特征：

能够实现在线灭菌（SIP）或系统在使用前进行密闭和灭菌。

基于结构的优化设计，能够在一个生产周期内保持系统的完整性。且在与其他密闭系统连接时，能够保持系统完整性不受破坏。

在实施预防性维护过程中，有相应措施保护系统的完整性。

5.4.2. “开放”系统

 “开放”系统是不符合“密闭”系统规定的一项或多项特征的系统，开发系统条件下进行的操作是影响最终药品无菌特性的重要环节，如设备（或管道）的无菌连接、分装过程容器的更换等，是引入微生物污染的高风险过程。模拟试验方案设计时应重点考察以上过程中无菌保障措施的有效性。

1. 模拟试验方案的设计及实施过程要求

 模拟试验是一个系统性工程，通过模拟无菌生产工艺全过程，证实生产过程中无菌保障措施的有效性。因此，模拟试验实施过程应关注以下几方面：

* 1. 开展模拟试验的前提条件

 在无菌工艺模拟试验之前应确认与无菌工艺相关的支持性系统和灭菌系统的验证已完成，并达到了可接受的标准。

* + 1. 工艺设备、公用系统和辅助设施按照预期要求完成了设计、安装及与无菌生产有关的性能确认。
		2. 工艺设备、公用系统、辅助设施灭菌方法完成了相应的验证，物品及厂房、设施所使用消毒剂及消毒方式完成了相关的验证。
		3. 药液及与产品接触的气体、设备组件、容器、器具灭菌工艺完成了相应的验证。
		4. 无菌生产区域的气流及环境达到了设计要求，并能稳定运行。
		5. 根据无菌生产工艺要求建立了相关受控操作文件。
		6. 参与模拟灌装试验的人员接受了药品GMP、无菌操作、微生物知识以及实施模拟试验的培训。
		7. 进入无菌洁净区的全部人员通过了更衣程序的确认，确认了每位参与者可进入的区域和其所允许的无菌操作项目，并采用文件形式或其他限制措施。
	1. 基于无菌风险的模拟试验方案的设计

 模拟试验方案设计应结合无菌生产工艺，尽量与实际无菌操作过程保持一致，以求试验结果真实反映生产过程的无菌保障水平。

* + 1. 无菌生产工艺的风险评估

 无菌生产工艺的设计基于对产品特性、工艺技术和无菌保证措施的认知和经验的累积，设计模拟试验方案前应对无菌生产过程开展系统性风险评估，以充分识别无菌生产过程中潜在风险点。

* + 1. 模拟试验方案设计时，应重点考察和评估高风险无菌操作过程，如溶媒结晶工艺中引入晶种的过程。无菌生产工艺的暴露操作是影响最终原料药无菌特性的重要环节，如设备（或管道）的无菌连接、无菌容器的转运和更换、灌装等关键操作，模拟试验方案设计应考察以上过程无菌保证措施的有效性。
		2. 证实无菌操作人员满足无菌生产要求，是实施模拟试验的目的之一，有人员参与的无菌操作，应考察评估来源于人员的污染途径。进行模拟试验方案设计时，应结合工艺过程中的“开放”环节，重点考察有人员参与的关键操作，评价人员素质和防护措施的可靠性。

6.2.4模拟介质的选择与评价

6.2.4.1模拟介质的选择

 应考虑模拟介质与无菌工艺的适宜性，结合被模拟产品的特点以及模拟介质的可过滤性、澄清度、灭菌方式等方面选择模拟介质，以尽可能模拟无菌生产工艺。不应选择具有抑菌性的模拟介质，以确保模拟试验结果的可信度。通常可采用的模拟介质包括：促进微生物生长的培养基、安慰剂物料等，一般情况下推荐使用培养基（如TSB）。

6.2.4.2培养基的选择

 胰酪大豆胨液体培养基（TSB）是一种广谱性培养基，特别对无菌工艺环境中源自人体的细菌、芽孢和真菌有良好的促生长效果，是无菌工艺模拟试验常用的培养基。

 如果产品需充入惰性气体、储存在无氧条件，无菌操作在严格的厌氧环境中进行时（即氧气浓度低于0.1%），应考虑采用厌氧培养基如硫乙醇酸盐液体培养基（FTM）。在厌氧的无菌工艺环境监控中反复发现厌氧微生物或在产品无菌检查中发现厌氧微生物时，需评估增加厌氧培养基。

 用于模拟抑菌性产品的培养基，如有必要需评估抑菌性产品残存对其促生长能力及模拟试验结果的影响。

 包含动物来源成分的培养基，应考虑培养基引入外源污染的风险。如针对BSE（可传染性海绵脑病）/TSE（疯牛病）可提供无BSE（可传染性海绵脑病）/TSE（疯牛病）证明，亦可选用植物来源的培养基。

* + 1. 培养基的配制
			1. 模拟试验的培养基应在控制区域进行准备，需注意培养基粉尘在环境中的扩散、残留及去除，防止其残存于环境及设备表面而造成微生物滋生。通常按照最终培养浓度3%的要求配制培养基。配制后的培养基应尽快灭菌或除菌过滤，宜进入无菌储罐或容器储存备用。
			2. 培养基在模拟试验前应恢复至室温，即用型无菌液体培养基储存条件和使用条件应遵循生产商要求。
		2. 培养基的除菌与灭菌
			1. 除菌过滤

 采用除菌过滤的方式便于同生产工艺衔接，但在培养基选择阶段应考虑其过滤性。由于培养基的特性与药液有差异，培养基除菌过滤的滤器型号可与产品使用的过滤器不同，培养基颗粒或生物负载较大等原因引起除菌过滤器的堵塞时，可增加预过滤。亦需考虑降低非无菌培养基中细菌和霉菌生长的风险，以避免微生物生长导致培养基过滤性能降低。针对以上情况应进行风险评估并采取合理应对措施。

* + - 1. 湿热灭菌

 如用于模拟试验的大体积培养基采用在线灭菌或灭菌釜湿热灭菌，会产生受热不均匀或灭菌不充分现象。应对该灭菌方式进行风险评估和验证。

 灭菌过程应遵循生产商推荐的灭菌时间和温度的建议，并对灭菌过程予以确认，以确保灭菌后培养基的促生长能力，避免过度灭菌使培养基碳化造成降低其促生长性能。为避免过度加热可采用湿热灭菌与除菌过滤联合使用的方式，但均应进行促生长能力试验。

* + - 1. 辐照灭菌

 使用辐照灭菌的培养基粉末，应在无菌环境下进行无菌配置等操作。辐照灭菌过程应经验证，验证中应使用耐辐射的菌种，并在产品质量报告体现菌种、剂量信息等重要验证信息。

* + 1. 培养基促生长能力试验
			1. 应在无菌工艺模拟试验前或同时，及14天培养后按照现行中国药典方法对培养基进行促生长能力试验，并且用于促生长能力试验的培养基应与用于模拟工艺试验培养基经过相同工艺（如除热源、灭菌、充氮、灌装、冻干等），以证明本次验证所用培养基的性能。
			2. 培养基促生长能力试验使用的菌种，如：白色念珠菌（CMCC98001）、黑曲霉（CMCC98003）、枯草芽孢杆菌（CMCC63501）、金黄色葡萄球菌（CMCC26003）、铜绿假单胞菌（CMCC10104）、生孢梭菌（CMCC64941），在试验中除标准菌株之外应考虑加入环境和无菌检查中发现的典型微生物。促生长试验接种量应不大于100CFU。
		2. 其它模拟介质的选择及评价
			1. 其它模拟介质的选择

 对于无菌粉末产品及特殊剂型产品，如悬浊液、软膏/乳膏/乳液/凝胶等，在无菌工艺模拟试验中会使用其它模拟介质，如安慰剂、赋形剂等，根据剂型特点、生产工艺及设备、模拟介质特点选择适当的模拟介质。模拟介质的流动性应尽可能类似于被模拟产品，并应易于进行分装等工艺操作。模拟介质还应易于灭菌，无抑菌性，易溶解或易分散至培养基中。常用模拟介质有聚乙二醇、乳糖、甘露醇、氯化钠、凡士林等。模拟介质的灭菌过程应经验证并提供相关报告，其内容包括灭菌方式对模拟介质特性有无不良影响，灭菌后的无菌性，如采用辐照灭菌包装形式应与在模拟试验时使用的一致等重要信息等。模拟试验使用的模拟介质包装形式应与被模拟的无菌粉末保证形式一致。

* + - 1. 其它模拟介质的评价

 在使用模拟介质前应对其适用性进行确认，包括无菌试验、抑菌试验、溶解度试验以及溶解时间实验等。抑菌试验通常使用枯草芽孢杆菌（CMCC63501）和白色念珠菌（CMCC98001），应考虑加入环境和无菌检查中发现的典型微生物。无菌模拟介质由无菌WFI溶解后，加入到无菌培养基中，达到模拟工艺选用的浓度范围，通常是1%-5%，每个浓度接种10-100CFU，阳性对照接种到不含无菌模拟介质的试管中，在20-25℃培养7天所有试管应明显浑浊。

* 1. 模拟灌装数量和持续时间
		1. 无菌工艺模拟灌装数量应足以保证评价的有效性及完成模拟方案中设计的各种干预活动，应不低于正常生产批量。应通过风险评估对所设计的灌装数量、持续时间、模拟方式、预期收率作出合理说明。
		2. 模拟试验所用模拟介质的数量，应能够覆盖无菌工艺设备的全部内表面，特别是混粉过程，应确保模拟介质覆盖混粉器内壁全部表面。
		3. 考虑到模拟最差条件的需要，模拟试验维持时间不应低于实际生产用时。
	2. 容器装量

 容器中培养基灌装量应考虑适宜微生物生长的需要和容器内表面覆盖的要求，灌装量不必与产品相同，通常应能达到容器体积的1/3～1/2，即可保证产品通过倒置和旋转接触到所有内表面并有足够的氧气支持微生物的生长，以利于对培养基的观察。

* 1. 模拟试验方法的选择

 通常无菌原料药生产工艺由多个工艺单元构成。模拟试验方案的设计应考虑试验过程可连续性问题，以确定采用连续工艺模拟还是分段模拟。

* + 1. 连续工艺模拟方式
			1. 这种模拟方式是将整个无菌过程视为一个整体，模拟介质不间断地完成各个单元操作，并在最终分装容器内进行无菌培养和判定，以评价生产过程的无菌保障水平。
			2. 连续工艺模拟方式的选择，取决于模拟介质在模拟过程中的适用性，如喷雾干燥工艺可采用液体模拟介质，通过模拟喷雾干燥过程，可将液体模拟介质转化为固体模拟介质，进而实现分装、密封等过程。
			3. 连续工艺模拟可以真实反映整体无菌保障水平。但也有其不足之处，如发现污染，调查污染源的难度较大。
		2. 分段模拟方式
			1. 分段模拟方式是将无菌生产过程按照工艺单元分割成若干段，逐段进行模拟试验，分段数量取决于工艺过程和模拟介质。模拟试验最终的结果是各段独立模拟试验结果的累积，对一些无菌工艺而言，该方式可根据需要变换采用固体或液体模拟介质，保证与实际工艺过程的一致。
			2. 分段工艺模拟的优点是可以特定评价某一单元操作的无菌风险，如发现微生物污染，相对于连续工艺模拟更易于发现污染源，进而采取针对性纠正措施。
			3. 分段模拟方式也有不足之处，如：需要更多种类或数量的模拟介质；模拟介质需要多次无菌化处理，增加潜在污染风险；需要采集更多的物料、环境和人员监测样本进行评价。
	1. 最差条件的选择

 最差条件并不是指人为创造的超出允许范围的生产状况和环境。为了确认无菌工艺风险控制的有效性，应通过风险评估并结合无菌生产工艺、设备装备水平、人员数量和干预等因素来设计模拟试验最差条件。包括但不限于以下方面：

* + 1. 人员

 应充分考虑人员及其活动对无菌生产工艺带来的风险，如模拟生产过程的最多人数，当操作人员数量减少可能导致其它方面污染风险增加时，则此类条件也视为最差条件之一。参与人员应包括日常参与到无菌生产的全部人员，如生产操作、取样、环境监测和设备设施维护人员，同时应考虑以上人员交叉作业、班次轮换、更衣、夜班疲劳状态等因素。

* + 1. 工艺时间

 应考虑模拟实际生产操作过程中设备设施、分装器具、最终容器消毒或灭菌后放置的最长时间及最长的工艺保留时限等，如：混粉或分装前的等待时限。

* + 1. 灌装速度

 模拟试验应涵盖产品实际灌装速度范围，基于无菌风险的角度分析评价灌装速度对工艺过程及其他方面的影响程度，如采用最慢的灌装速度、最大的容器用以模拟最长暴露时间，也可采用最快的灌装速度、最小的容器用以模拟最大操作强度/难度。

* + 1. 环境

 模拟试验挑战的最差环境应考虑选择单批产品无菌生产周期末端、间歇式生产的空调系统重新开启后或连续生产期间周期性灭菌最长的时间间隔。无菌工艺模拟试验期间的环境及器具的消毒处理应依据正常生产期间的消毒方法进行，应避免消毒剂的过度使用。

* + 1. 日常生产中，针对微生物污染事件而制定了纠正措施。在模拟试验时，应对纠正措施的有效性给予确认。
	1. 模拟试验过程的干预设计
		1. 概念

 无菌生产工艺中人员及人员活动是最大的微生物污染源，因此，本指南中的干预是指由操作人员按照相关规定参与与无菌工艺生产有关的所有操作活动。干预可分为固有的干预和纠正性干预。固有干预是指常规和有计划的无菌操作，如装载胶塞，环境监控，设备安装等；纠正性干预则是指对无菌生产过程的纠正或调整，如生产过程中清除破碎的瓶子，排除卡住的胶塞，更换部件、设备故障排除、手工加塞等。

* + 1. 原则

 在无菌生产过程各种允许的干预活动应该文件化，明确规定正常生产活动和干预活动，模拟试验中干预设计应与实际的生产活动保持一致，模拟试验不应挑战不合理的干预，以证明其合理性。在模拟试验方案中应制定干预清单和实施计划，模拟试验时逐一实施并记录。

* + 1. 模拟类型及频次
			1. 无菌模拟试验方案中应明确规定固有干预、纠正性干预（如维修、故障停机、设备调试）的频次、类型及复杂程度（如简单干预：倒瓶剔除等；复杂干预：灌装机泵及针头装配、设备故障维修等）。如模拟试验用于评估一定阶段的日常生产无菌保障水平，干预应尽量与实际的生产工艺一致。
			2. 对于生产线存在多种相似的组合（如：不同剂型的相同工序、同种剂型的不同容器规格）时，可采用最差条件的组合以代表其他相似的组合。通常，固有干预及经常发生的纠正性干预应在每次模拟中都实施，偶发性的干预可周期性地模拟。对难以预测的设备故障或偶发性干预，如无菌生产过程意外暂停或重启、无菌状态下设备、设施偶发故障排除等，应在模拟试验方案中设计与此类操作相关的所有干预。模拟试验应设计并实施足够多的纠正性干预。干预频次的设计应考虑生产过程按比例覆盖模拟试验的全过程，用以支持实际的无菌产品的评价。
			3. 无菌取样过程，应考虑分布在分装的前、中、后阶段，调整装量、取样、重复密封过程均应考虑模拟，并为生产过程中处理该类问题提供参考。
		2. 人员

 实施干预的人员（应包括操作、维修人员等）应经过相关的培训和考核并能按规定的程序实施各种干预。标准化的简单的固有干预可由某些操作人员实施并据此评价其他人。复杂性高的操作，如装配灌装机等，从事此类操作的人员均应在无菌工艺模拟试验中参与操作，操作条件不应优于日常生产的操作条件。

* + 1. 干预后产品（容器）的处理

 实际工艺中如明确规定受干预影响的产品（容器）应从生产线上剔除，则在模拟试验时也可剔除，并应在方案中明确规定剔除的数量和位置，模拟试验时产生的这类产品（容器）可不培养。无需培养的培养基也应予以记录并评估其合理性。如在干预发生前已经密封，但在日常生产中按规定不需要剔除的产品，模拟试验时也应保留、培养并纳入评估。

6.7.6. 记录

 模拟试验过程中的所有干预必须记录，用以评估干预对无菌保证的影响。纠正性干预记录的内容至少应包括纠正性干预的类型、位置、次数；固有干预记录至少包括干预内容、分类和发生频率等信息。

6.8. 培养与观察

6.8.1. 模拟介质的处理

 无菌工艺模拟试验结束后，应对所使用的模拟介质（培养基、安慰剂物料）进行全部处理和培养。非培养基模拟介质可通过适当的无菌过滤器系统将微生物转移至滤膜上，之后将滤膜浸入培养基内进行培养；也可在最终包装容器内加注无菌培养基进行培养。培养基的浓度应能支持潜在微生物的生长，如：TSB一般浓度控制在3%水平。

6.8.2. 培养条件

6.8.2.1. 应确保全部模拟介质接受无菌检查。培养基如在分装容器内培养，应对容器翻转、倒置等，确保培养基包括密封件的所有内表面。培养时间至少14天，可选择两个温度进行培养：在20℃-25℃培养至少7天，然后在30℃-35℃培养至少7天。如选择其他培养计划，应有试验数据支持所选培养条件的适用性。

6.8.2.2. 在整个培养期间应连续监控培养温度。如实际生产过程中，分装容器内需要填充惰性气体，在模拟试验过程应考虑用无菌空气替代避免影响微生物培养。

6.8.2.3. 培养后的检查

 培养结束后，应对所有模拟灌装产品逐支进行无菌性检查，通常应在合适的照度下进行目视观察，检查人员应具有无菌检查背景，以正确判定微生物是否生长。

 在培养期间定期观察培养基的培养情况，如在培养期间发现异常情况时应进行进一步调查。

 如在培养后检查中发现密封缺陷的灌装产品，应进行适当的原因调查并采取纠正措施。

 当灌装不透明的容器，应考虑将转移至透明容器观察，以确保有阳性时能被观察到。

* 1. 环境及监控
		1. 环境监控方案设计

 应通过风险评估确定日常生产的环境监控的各要素，如取样点、取样对象、取样频率、警戒和纠偏标准、实施方法等。评估环境监测采样带来的风险，在最差条件选择时根据风险评估结果选择环境监测需要模拟的程度，以充分评估环境监测对无菌工艺的影响。模拟试验时应采用与日常生产相同的环境监控方案为基础，并模拟生产状况，包括采样仪器、耗材的转移、消毒等，任何异于日常环境监控的情况都应有说明和记录。通过有计划的环境监控证明模拟试验过程中的环境符合要求。

* + 1. 环境监控数据处理

 环境（包括人员）监控的数据结果用于评估模拟生产过程中的环境条件是否适宜于生产。当模拟试验出现阳性结果时，环境监测数据可用于进行根本原因的调查。

 模拟试验时发生的环境偏差并不是模拟试验成功的否决条件，是否通过试验取决于调查的结果。环境监测结果异常时，即使试验结果成功，也应进行必要的调查和纠正，以降低污染最终产品的机率。即使最终决定在环境监控结果超出纠偏标准时无菌工艺模拟试验依然通过，也不意味着日常生产可以在同等环境偏差的条件下进行。

* + 1. 其他应该考虑的问题：
			1. 仪器耗材传递

 关键洁净区的专用监测设备，专用设备在模拟工艺试验时不得混用避免引起污染。

* + - 1. 表面（包括人员）采样

 应控制采样时间及力度以保证采样效果。根据生产环境消毒剂以及生产产品的抑菌性，采样应消除抑菌性并验证中和和效果。采样后立即消毒其表面。重要区域采样点避免动物源性污染。。

* + - 1. 悬浮粒子监测

 A级洁净区进行悬浮粒子监测应包括关键操作的全过程中，例如设备组装操作过程等。生产过程中的污染（如活生物、放射危害）可能损坏尘埃粒子计数器时，应当在设备调试操作和模拟操作期间进行测试。A级洁净区监测的频率和取样量，应能及时发现所有人为干预、偶发事件及任何系统的损坏。

1. 可接受标准与结果评价

7.1. 无菌工艺模拟试验可接受标准应当遵循现行GMP无菌药品附录中的有关规定。

7.2. 可接受标准存在定性和定量两种方式，定性标准意味着模拟试验只接受零污染的结果，适用于任何模拟试验可接受标准的设定，排除了定量标准中识别微生物污染来源的困惑和潜在不确定性风险。因此，本指南推荐企业采用定性判定标准。

7.3. 企业应制定符合法规的内控标准，在制定内控标准时，应考虑以下几方面因素：

* 1. 模拟试验应和实际生产尽可能接近；应基于风险评估的原则制定科学合理的内控限度；出现任何阳性均应进行彻底、规范的调查，在科学评估的基础上采取适当的纠偏措施。
	2. 采用良好设计且受控的无菌灌装系统，特别是自动化的系统如吹灌封、隔离器等，污染率可大幅度降低。
	3. 即使每次模拟试验的污染率都符合可接受标准，如果连续进行的模拟试验批中反复出现阳性意味着无菌生产工艺存在系统性问题，必须得到有效解决。
1. 污染调查与纠正措施

8.1. 无菌工艺模拟试验存在污染，即意味着无菌保证可能存在问题，出现的任何污染样品均应视为偏差并彻底调查，并为改进无菌工艺提供数据支持。污染调查流程及方法应在方案中明确规定。

8.2. 可通过查看无菌工艺模拟试验的录像或现场记录，以还原模拟试验过程中人员操作行为、干预及设备运行等真实状况，有利于分析问题的来源。对无菌工艺模拟试验实施过程相关的所有记录进行详细调查，并关注各种偏差、验证、变更等，所有偏离原始验证状态情况均应逐一评估并说明。检查所有相关人员的培训和资质确认记录。

8.3. 应对模拟试验中发现的微生物进行鉴别，并列入企业微生物菌种库，以便开展污染途径调查。此外，也可借助文献检索来查找污染途径。

8.4. 调查的关键是查找污染来源，结合调查需要，应制定一个完整的取样和微生物鉴别计划，调查过程应有记录并归档。调查结果应形成书面报告并得到质量管理部门的批准

8.5. 如调查找到指定的原因，应制定纠正预防措施，并再次进行模拟试验，以证明措施的有效性。如调查无指定原因，应对生产工艺过程的无菌控制开展系统性评估，在现有模拟试验方案的基础上增加取样点和频次，以获得更多数据支持原因调查，同时应适当增加试验批次，以证明无菌生产工艺具备持续、可靠的无菌保障水平。

1. 模拟试验的周期与再验证

9.1. 新建无菌生产线，在正式投产前，每班次应当连续进行3次合格的模拟试验。

9.2. 正常生产中，每班次每半年应至少进行一次模拟试验。对于因其它原因停产一定周期的生产线，在恢复正式生产前应考虑进行无菌工艺模拟试验。

9.3. 空气净化系统 、无菌生产用设备设施、无菌工艺及人员重大变更或设备的重大维修后，应进行风险评估确认再模拟试验批次。

9.4. 应充分评估生产线的风险，在发现设施、人员、环境或工艺的持续监测出现不良趋势或无菌不合格时，也应考虑再次进行模拟试验。

10.无菌工艺模拟试验的局限性

 无菌工艺模拟试验虽然基于无菌风险而开展的，考虑到生产工艺的无菌保证水平和每次无菌操作过程的唯一性，成功的无菌工艺模拟试验是允许正式生产的必要条件，但应注意其局限性。

10.1. 以现行药品GMP法规要求为准则，评价无菌生产过程的法规符合性，低于规范要求的无菌工艺过程，不能通过模拟试验来证实其无菌控制的合理性。

10.2. 虽然可通过培养基模拟灌装试验来评估无菌生产工艺的可靠性，当产品无菌检查出现阳性时，不能以模拟灌装试验结果，排除生产过程所带来的污染。

11.术语

无菌原料药：法定药品标准中列有无菌检查项目的原料药。

无菌工艺：物料、器具经过灭菌处理，并在无菌防护下加工获得最终产品，且产品装入其最终容器后不再进行任何灭菌处理。

无菌工艺模拟试验：用模拟介质代替产品，模拟无菌工艺过程，来评估无菌生产过程的无菌保障水平。

“密闭”系统：是指系统在使用前采用经验证的灭菌程序进行在线灭菌或密闭后灭菌，并在一个完整生产周期内能够耐受压力或真空，系统泄漏率维持在规定范围内，以保证系统的完整性。

模拟介质：可用于替代无菌原料药模拟无菌工艺过程的物料，如培养基、安慰剂物料等。

TSB（Tryptone Soy Broth Medium）：胰酪大豆胨液体培养基，用于真菌和需氧菌培养。

安慰剂物料：是一种“模拟的无菌原料药”。其物理特性与无菌原料药相似，但不含有活性成份。

FTM（Fluid Thioglycollate Medium）：液体硫乙醇酸盐培养基，用于厌氧菌和需气菌培养。

最差状况:一组条件，包括工艺限度和环境限度，也包括那些可能引起工艺或产品失败的机会，但这些条件不一定会引起产品或工艺失败。

12.参考文献

<1> PDA technical Report No.22 Revised Process Simulation for Aseptically Filled Products

<2> PDA technical Report No.28 Revised Process Simulation Testing for Sterile Bulk Pharmaceutical Chemicals;

<3> PDA technical Report No.44 Quality risk management for aseptic processes.

<4> PIC/S Recommendation on the Validation of Processes;

<5> ICH Q9 Quality Risk Management

<6> WHO-GMP 技术报告937

<7> 中国《药品生产质量管理规范》(2010版)及附录

<8> 《中华人民共和国药典》（2015版）中国医药科技出版社