洁净室污染控制策略的研究

Study on Cleanroom Contamination Control Strategy

忻 运，王 杰，魏佳鸣*

（上海市食品药品包装材料测试所，上海 201203）

XIN Yun, WANG Jie, WEI Jiaming*

(*Shanghai Food and Drug Packaging Material Control Center, Shanghai 201203*)

摘要：根据 2022 版欧盟 GMP 附录 1 关于洁净室监测的要求，探讨洁净室污染控制策略的有效性和科学性。该文运用网格化风险评估工具，将洁净区域划分为高、中、低风险区，结合颗粒物与微生物的监测指标，比较网格化与未网格化划分所得的监测数据结果，尝试建立稳定且实用的洁净室环境监测计划。结果显示，网格化划分后的各项监测数据结果均符合可接受标准。相较于未进行网格化划分的监测方法，该方法能探索洁净室环境的“最差情况”。洁净环境监控的侧重点已经从单独要素控制转向整体策略控制，应关注关键区的气流流型、建立整体性的污染控制策略，以保证洁净环境符合欧盟 GMP 附录 1 的要求。

关键词：2022 版欧盟 GMP 附录 1；网格化风险评估；污染控制策略；环境监测

中图分类号：R95；TQ460.8^{+}2　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2024)05-0731-05

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.05.019

2022 版欧盟 GMP 附录 1《无菌药品生产》（以下简称“附录 1”）于 2023 年 8 月（除个别条款外）正式执行。与前版相比，附录 1 的变化较大。污染控制策略（contamination control strategy，CCS）是附录 1 的高频词，也是重点要求。CCS 是针对微生物、内毒素和颗粒物的控制计划，源自对当前产品和工艺的理解[1]。CCS 的开发依赖于全面的技术和工艺知识，包括但不限于设施、设备、过程、工艺以及相关监测方法[2]。CCS 的期望是企业对现有的“质量管理体系”和“风险管理要求”进行文件化整合。

洁净环境监测是 CCS 的重要组成部分。基于 CCS 框架的有效环境监测方法之一是网格化风险评估。根据评估结果，环境监测计划应重点关注总颗粒物和微生物数据的回收和记录，作为趋势分析的重要参考依据。

本研究介绍了某药企针对洁净室关键操作区进行的网格化风险评估，并与未网格化的数据进行分析比对，为今后环境监测与 CCS 的实施提供数据支撑。

收稿日期：2024-02-03

作者简介：忻 运（1987—），男，硕士研究生，中级工程师，专业方向：灭菌工艺及洁净环境验证。

通信作者：魏佳鸣（1981—），男，硕士研究生，高级工程师，专业方向：灭菌工艺及洁净环境验证。

E-mail：weijiaming@shpmcc.com

1 采样方法、监测计划与可接受标准

尘埃粒子采样方法参照《ISO 14644-1：2015(E) 洁净室及其相关受控环境》，浮游菌采样方法参照《GB/T 16293—2010：医药工业洁净室（区）浮游菌的测试方法》，沉降菌采样方法参照《GB/T 16294—2010：医药工业洁净室（区）沉降菌的测试方法》；接触菌采样方法参照《GB 50591—2010：洁净室施工及验收规范》。本研究所用主要仪器为：3100E 型激光粒子计数器（美国 Lighthouse 公司）；MAS-100NT 型浮游菌采样仪（美国 Merck 公司）；815 型培养箱（美国赛默飞公司）。所用培养基为大豆酪蛋白琼脂培养基（TSA，规格 90 mm/55 mm，美国 Merck 公司）。

根据附录 1 的要求执行动态监测，监测计划及可接受标准如表 1 所示[3]。

2 网格化风险评估方案及结果

对于同一洁净区内不同级别的洁净室，利用网格密度与洁净级别关联起来[4]。在相同面积下，A 级区的网格密度最高。例如：A 级区、B 级区、C 级区、D 级区的网格面积分别被设置为 0.5、2、3 和 4 m^2。

表 1　微生物和尘埃粒子的可接受标准

Tab.1　Acceptable Criteria of Microbial and Particle

洁净级别	浮游菌最大值 /(cfu·m^{-3})	沉降菌最大值 /cfu(4 h)	表面微生物（接触碟法）最大值 /cfu	尘埃粒子 (>0.5 μm/m^3) 最大值	尘埃粒子 (>5 μm/m^3) 最大值
A	没有生长	没有生长	没有生长	3520	29
B	10	5	5	352 000	2 930
C	100	50	25	3 520 000	29 300
D	200	100	50	未制订	未制订

网格划分后对每个网格进行风险评估，每个网格设置如下 6 项风险因素：①清洁和消毒 (C)；②人流 (P)；③物流 (M)；④靠近产品 (O)；⑤干预复杂性 (CI)；⑥干预频率 (FI)。除“靠近产品 (O)”的风险分级为低风险 (1 分)、中风险 (4 分)、高风险 (8 分) 以外，其他风险因素的分级为低风险 (1 分)、中风险 (2 分)、高风险 (4 分)。上述 6 项风险因素分值的乘积，即为各网格总分值。各网格根据总分值，分为低风险网格 (1 ～ 16 分)、中风险网格 (32 ～ 256 分)、高风险网格 (512 ～ 8 192 分)。最后，根据洁净区域内每个网格的分值结果，整体考虑环境取样方法、取样位置和取样频率等 [5]。

2.1　网格化划分及风险评估结果

对洁净室关键操作区的网格化分区如图 1 所示，左侧是 B 级区灌装间的网格化分布，该区域也是 A 级区的背景区域。根据表 2 所示的网格化风险评估结果，结合 B 级区面积核算，得到该区域含有低风险区 5 个、中风险区 13 个、高风险区 18 个。在 B 级区网格化评估中，低风险区涉及人员与物料活动较少；中风险区涉及不同级别的压差梯度监控；高风险区涉及产品路径、人员活动以及 A 级区开门位置。越靠近 A 级区风险越大，提示人流和物流活动越频繁。

图 1 右侧是 A 级区的网格化分布。根据表 2 中的网格化风险评估结果，结合 A 级区面积核算得到，该区域含有低风险区 0 个、中风险区 16 个、高风险区 4 个。在 A 级区的网格化评估中，中风险区域涉及需干预或开门的位置，高风险区域涉及产品加塞前的全过程。A 级区的中、高风险区的核心位置是产品暴露区域，随着产品灌封，风险逐步降低。

2.2　采样位置和检测结果

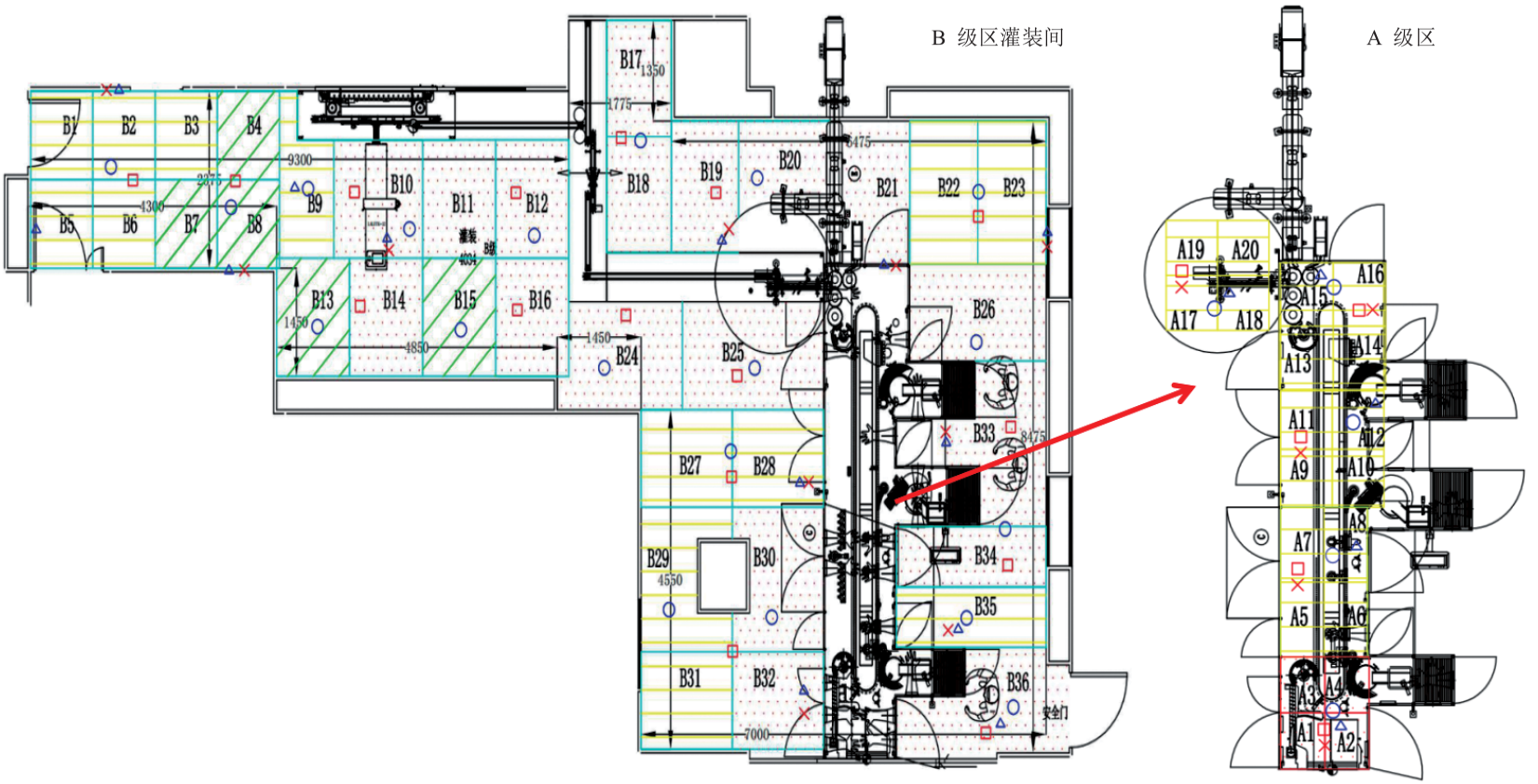
根据网格化风险评估结果确定各监测项目的采样位置，如图 1 所示。网格化划分后的采样点数量相比于未网格化前相同或略有增加，并且更加侧重对中、高风险区的监测 [6]。

将网格化后所得的监测结果和未网格化之前的

表 2　A 级区和 B 级区网格化后的风险评估结果

Tab.2　Risk Assessment Results of Grade A and Grade B after Grid Division

图 1 中的网格编号	洁净等级	网格说明	C	P	M	O	CI	FI	风险得分	风险等级
A1，A2，A3，A4	A	人员活动或干预、产品暴露	4	1	2	8	2	4	512	高
A5，A6，A7，A8	A	半加塞区域、使用无菌工具少量干预	2	2	2	8	2	2	256	中
A9，A10，A11，A12	A	有较难清洁的传送带	2	2	2	4	2	2	128	中
A13，A14，A15，A16	A	人员在灌封机周围活动可能影响局部环境	2	2	2	4	1	2	64	中
A17，A18，A19，A20	A	轧盖产生的颗粒可能影响局部环境	2	2	2	1	2	2	32	中
B7，B8，B15	B	需维持温湿度至舒适体感，风险较低	2	4	2	1	1	1	16	低
B4，B13	B	存在难以清洁的角落或地面损坏产生的颗粒物	4	2	2	1	1	1	16	低
B1，B2，B3，B5，B6	B	与相邻低级别区域始终保持压差梯度	4	4	4	1	1	1	64	中
B9，B22，B23，B27，B28，B29，B31，B35	B	人员行动和物料转移通道	2	4	4	1	1	1	32	中
B10，B11，B12，B14，B16，B17，B18，B19，B20，B24	B	物料传送需初始气流保护，并确保正压	2	4	2	8	2	2	512	高
B21，B25，B26，B30，B32，B33，B34，B36	B	人员干预，设备开关门，物流对产品的干扰	2	2	2	8	4	2	512	高



▨—低风险区；▤—中风险区；▥—高风险区；

○—网格化分区后尘埃粒子 / 沉降菌 / 浮游菌的采样点位；△—网格化分区后接触菌的采样点位；

□—未网格化分区时尘埃粒子 / 沉降菌 / 浮游菌的采样点位；×—未网格化分区时接触菌的采样点位。

图 1　B 级区灌装间和 A 级区层流区的网格化分布图

Fig.1　Grid Mappings of Filling Room of Grade B and Filling Laminar Airflow of Grade A

结果进行比对，如表 3 所示。可见，对洁净区进行网格化划分后，所得的菌落和颗粒物监测结果均高于未网格化，且高值数据多出现在人流、物流和干预较频繁的区域。

3　结果分析和讨论

3.1　基于网格化的环境监控结果分析

采样数据经确认均符合可接受标准。由表 3 可见，洁净区经网格化划分后监测得到的菌落或颗粒物结果高于未网格化划分的结果，原因有以下几点。①根据风险评估结果，采样位置更贴近人为干预区或关键操作区。②中、高风险区中的采样点密集度有所提升。③采样高度不局限于 0.8 ～ 1.5 m。例如虽然灌装线和冻干机之间的传送带水平高度稍低于 0.8 m，但物料传输全程需要 A 级层流保护。根据风险评估结果，B12 点位和 B24 点位参照传送带高度取样；又如 B34 点位靠近人员操作（加胶塞）位置，操作高度高于 1.5 m，因此该点位的取样高度参照了人员操作高度。基于风险评估的采样数据结果更有助于了解洁净室的“最差状况”。环境监控数据显示的结果良好，不等同于产品质量良好 [7]。建议今后环境监测采样位置应始终基于科学依据和历史数据，须符合“质量风险管理”的原则 [8]。实际采样结果要能体现环境的现实状态，避免人为选择污染概率较小的区域进行采样。

3.2　A 级区气流模式的网格化验证

即使 A 级区总颗粒物和微生物负荷符合可接受标准，也不能完全证实 A 级区产品、工艺和干预措施受到初始气流的保护 [9]。验证气流模式的首要任务是对临界区的确认，要证明气流不会从低级别区流入高级别区，即气流模式在 A 级区、临界区、背景区都要验证。其次，从设施、设备的视角来看，建议在洁净环境中使用隔离器或限制进入隔离系统（restricted access barrier system，RABS）进行生产操作，其优势在于能从源头保障初始气流的。同时基于隔离器或者 RABS 优良的密闭性，背景区的洁净级别可适当降低，这对降低车间总体能耗也有益处。第三，对于暂无法更新设备的洁净室，气流模式的验证应基于风险评估，需要详尽列出生产过程中可能发生的干预措施，包括倒瓶、取胶塞、检修等风险操作，以确保所有关键区被初始气流全部覆盖。

表 3　A 级区和 B 级区的采样数据汇总 [1)]

Tab.3　Summary of Sampling Data of Grade A and Grade B

洁净区等级	洁净区划分	采样次数	尘埃粒子 / 沉降菌 / 浮游菌的采样点数（量 / 个）				表面微生物（接触碟法）的采样点数（量 / 个）				尘埃粒子（>0.5 μm/m³）最大值	尘埃粒子（>5 μm/m³）最大值	沉降菌最大值 / cfu（4 h）	浮游菌最大值 /（cfu·m⁻³）	表面微生物（接触碟法）最大值 /cfu
			高风险	中风险	低风险	未网格化	高风险	中风险	低风险	未网格化					
A	网格化	第 1 次	1	4	—	—	1	4	—	—	465	0	0	0	0
		第 2 次	1	4	—	—	1	4	—	—	554	0	0	0	0
		第 3 次	1	4	—	—	1	4	—	—	501	0	0	0	0
	未网格化	第 1 次	—	—	—	5	—	—	—	5	285	0	0	0	0
		第 2 次	—	—	—	5	—	—	—	5	309	0	0	0	0
		第 3 次	—	—	—	5	—	—	—	5	265	0	0	0	0
B	网格化	第 1 次	10	6	3	—	6	6	1	—	2 457	321	2	4	2
		第 2 次	10	6	3	—	6	6	1	—	2 889	375	1	2	1
		第 3 次	10	6	3	—	6	6	1	—	3 066	299	2	3	1
	未网格化	第 1 次	—	—	—	16	—	—	—	10	2 045	168	0	0	1
		第 2 次	—	—	—	16	—	—	—	10	1 923	217	1	1	0
		第 3 次	—	—	—	16	—	—	—	10	1 831	185	0	1	0

注：[1)] 表中的监测结果是该区域所有采样点所得结果中的最大值。

3.3 建立整体观念的环境监控污染控制策略

环境监控结果存在一定程度的滞后，并且只反映洁净程度而不能为环境提供实时保障。洁净环境监控的侧重点从单独要素控制转向整体策略控制，这是附录 1 的最新要求。对环境监控要素的整合，建议先从对关键设备的评估入手。根据网格化风险分析，越靠近产品，风险越高，因此关键设备始终处于高风险状态；应尽可能全面地识别出风险点，持续回顾并建立警戒限、行动限和数据趋势。其次，运用整体性的方法控制环境微生物[10]。要调查偶发性污染，因为这提示设备接触面存在生物膜或环境污染。监控类型应侧重易受微生物侵入和影响的操作步骤。监控频率取决于工艺和污染风险，频率太低可能导致未监控到污染，频率过度则可能给工艺带来重复污染。对不良趋势和关键区域回收的任何微生物都应该进行调查[11]。第三，关于人员资格的确认。洁净观念、微生物学、个人卫生是健全污染控制计划的核心内容。从产品生产、工艺执行，到清洁消毒，每一项都需要人员去落实。建议设立无菌观察员岗位，进行定期评估和评价彼此表现。无菌观察员可以作为污染控制策略多学科团队中的一员，着重关注洁净室行为和无菌实践[12]。

当前 NMPA 正式申请加入药品检查合作计划(PIC/S)。最新版的 PIC/S GMP 附录 1 于 2023 年 8 月正式发布，PIC/S GMP 附录 1 与欧盟 GMP 附录 1 在形式、内容和理念方面均有较高的一致性。另一方面，由中国医药设备工程协会无菌药品先进制造专业委员会组织编写的《无菌药品生产污染控制策略技术指南（征求意见稿）》已发布，其中在洁净环境污染控制策略方面提供了全面且具有实操性的说明和案例。越来越多的国内外知名药企已将污染控制策略作为日常环境监控的主要依据，这是法规要求，也是必然趋势。综上所述，期望本研究能在附录 1 正式实施之际，对企业环境监测提供借鉴与参考。

致谢：上海市食品药品包装材料测试所科研课题（KY-2023-PTKT-001）给予资助。

参考文献：

[1] 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］．(2022-08-25)［2022-11-21］．https://health．ec．europa．eu/document/download/e9b30128-5c74-454d-b9d5-4a284ebaabcc_en?filename=2008_11_25_gmp-an1_en．pdf．

[2] PDA．PDA technical report No．13(revised2022) fundamentals of an environmental monitoring program［EB/OL］．(2022-06-30)［2023-02-21］．https://techpubportal．pda．org/publication/?i=745429．

[3] PDA．PDA technical report No．90 contamination control strategy development in pharmaceutical Manufacturing［EB/OL］．(2023-03-20)［2023-03-28］．https://techpubportal．pda．org/publication/?i=782488．

[4] SUMMERS A．Sterile basics of compounding: contamination control strategies, part 1［J］．*Int J Pharm Compd*, 2022, **26**(5): 411-418．

[5] 黄 洁，袁运生．mRNA 疫苗生产厂房工艺工程设计探索［J］．中国医药工业杂志，2022, **53**(12): 1796-1802．

[6] 李栋芸．无菌注射剂污染控制策略［J］．化工管理，2022,(4): 144-147．

[7] ZIEGLER I, BORBÉLY-JAKAB J, SUGÓ L, *et al*．Revision of viable environmental monitoring in a development pilot plant based on quality risk assessment: a case study［J］．*PDA J Pharm Sci Technol*, 2017, **71**(3): 234-244．

[8] 靳玉瑶，赵利斌，王 娟．欧盟生产质量管理规范监管制度对我国药品生产企业的启示［J］．中国药业，2021, **30**(13): 1-4．

[9] 甘永琦，阮 斌，零文超，等．药品企业生产车间洁净环境沉降菌的鉴定分析［J］．药物分析杂志，2020, **40**(9): 1684-1691．

[10] 李 辉，余 萌，刘立科，等．现代微生物鉴定技术在药品质量控制中的应用研究进展［J］．中国医药工业杂志，2021, **52**(3): 312-319．

[11] 王似锦，余 萌，王杠杠，等．制药企业洁净区环境监控与环境菌库的建设［J］．中国医药工业杂志，2020, **51**(10): 1334-1340．

[12] 王似锦，王杠杠，余 萌，等．国内外无菌药品生产法规指南中人员的管理［J］．中国医药工业杂志，2022, **53**(8): 1222-1226．