关于除菌滤器在线完整性测试的分析及探讨

Analysis and Discussion on Problems Related to On-line Integrity Test of Sterilization Filter

党明安[1]，曹琳琳[1]，张勇朝[2]，陈　姗[2]，崔艳霞[2]，潘若文[2]*
（1. 河南省药品审评查验中心，河南郑州 450008；2. 华兰生物疫苗股份有限公司，河南新乡 453003）

DANG Ming'an[1], CAO Linlin[1], ZHANG Yongchao[2], CHEN Shan[2], CUI Yanxia[2], PAN Ruowen[2]*
（*1. Henan Center for Drug Evaluation and Inspection, Zhengzhou 450008; 2. Hualan Biological Bacterin Inc., Xinxiang 453003*）

摘要：除菌过滤系统及无菌生产工艺是保证非最终灭菌药品无菌性的重要环节。对除菌过滤系统进行使用前灭菌后完整性测试（pre-use post sterilization integrity test，PUPSIT）可确保其能有效拦截所有微生物。该研究梳理了国内外药品监管机构对 PUPSIT 及其节点的法规要求，分析、探讨了 PUPSIT 的实施利弊和行业现状，以期为药品监管机构和无菌药品生产企业提供参考。

关键词：完整性测试；除菌滤器；使用前灭菌后完整性测试（PUPSIT）
中图分类号：R95　　**文献标志码**：C　　**文章编号**：1001-8255（2023）09-1387-04
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.09.016

除菌过滤，即采用物理阻留方法将药液或直接接触药液气体中的微生物去除，是无菌药品生产中一种非常重要的除菌方法。对于非最终灭菌的产品，主要依靠除菌过滤系统及无菌生产工艺来保证终端产品的无菌性。其中，无菌滤器的完整性和无菌性是保证产品无菌的重要前提。为了确保经过滤后药品的无菌性，必须对除菌滤芯进行使用前灭菌后完整性测试（pre-use post sterilization integrity test，PUPSIT），确定滤器本身的完整性、安装的正确性，以及过滤系统的密闭性等，以确保能够有效拦截微生物。因此，PUPSIT 是国内外法规及各类 GMP 检查的关注重点。使用后需测试滤器完整性的做法已经被各国药品监管机构普遍认可并被列入法规要求，但使用前对滤器进行 PUPSIT 的时间节点问题，备受 WHO、欧盟 EMA、美国 FDA 等机构的高度关注。例如，2022 年 8 月欧盟发布了《欧盟 GMP 附录 1 无菌药品生产》[1]，针对除菌滤器 PUPSIT 的时间节点进行了较为系统的规定。

本研究汇总、分析了除菌滤器 PUPSIT 的国内外法规要求及现状，并结合 PUPSIT 的原理、流程及方法，初步探讨了 PUPSIT 的有关问题。

1　除菌滤器 PUPSIT 的方法

PUPSIT 分破坏性和非破坏性 2 种，破坏性方法主要是细菌挑战性测试，即模拟实际生产过滤工艺中的最差条件，使用除菌滤器对含有一定量挑战微生物［如缺陷短波单胞菌（*Brevundimonas diminuta*）］的产品溶液或者产品替代溶液进行过滤，以确认除菌滤器的微生物截留能力，通过此测试能证明滤器是否满足除菌级过滤器的标准。非破坏性方法包括：泡点测试、水侵入测试（water intrusion test，WIT）、扩散流测试等。

（1）泡点测试：基于毛细管原理。滤膜中充满了微孔流道，形成了很多“毛细管”，当滤膜被液体完全润湿后，液体受到表面张力的作用被保留于滤膜内部，若要将液体挤出膜孔则需要外加一个气体压力。能够克服表面张力将膜孔内的液体完全挤出时所需要的最小压力，即为泡点值压力，也称“起泡点”。基于此原理的完整性测试方法，就是泡点测试法。泡点值与过滤器孔径相关联，根据泡点值

收稿日期：2023-02-06
作者简介：党明安（1969—），男，药品GMP检查员、药品核查员/高级工程师，从事药品审核、查验工作。
通信作者：潘若文（1968—），女，高级工程师，从事血液制品和疫苗药品生产和质量管理。
E-mail：zyc1388@hualanbacterin.com

可计算滤膜孔径，以此来判定除菌滤器是否完整。该方法适用于小面积过滤器。

(2) WIT：一种针对疏水性滤器的方法，基于水在疏水性滤膜表面的张力及毛细管现象发展而来。以水为介质，施加的压力必须足以克服膜孔中的毛细管压力，才能使水自由流过疏水性滤膜的膜孔，这个起始临界压力被称作水穿透点压力 (WPP)。在 WIT 测试时，装在滤壳上的疏水性滤器的上游浸没在水中，滤壳内部就由水柱封存了一段空气，在小于 WPP 的测试压力下，水侵入或透过膜使体积减小，空气体积相应增大，导致压力降低。因此测量在规定时间内过滤器上游空气的压降值可判断过滤器的完整性。

(3) 扩散流测试：基于溶解 - 扩散模型。当滤膜被液体完全润湿后，如果在过滤器的上游存在压缩气体，而该压缩气体的压力值又小于泡点压力时，滤膜仍然是完全润湿的。因为压缩气体一侧的气体压力会高于常压一侧，此时气体分子会在高压侧溶解到润湿液体中并扩散至常压侧，如果在下游接一根管子，会观察到有气体缓慢流出，即为扩散流，通过检测扩散流测试完整性的方法称为扩散流测试。气体扩散流量与滤膜两侧气体压差和膜面积成正比，为了消除测试压力不同所带来的影响，扩散流测试都在固定的压力下进行（通常为泡点值的 80%）；然而，气体扩散流与滤膜孔径无关，所以对于大面积滤器而言，推荐采用扩散流测试方法。

2　国内外与滤器 PUPSIT 相关的法规及指导原则

滤器通常经过组装、灭菌后使用，国内、国外法规对除菌滤器在使用后进行完整性测试的要求是一致的，而对于在使用前开展完整性测试的时间节点选择并不一致，主要分为 2 种观点：在使用前灭菌前进行完整性测试；在使用前灭菌后进行完整性测试（图 1）。

部分国家和国际机构针对除菌滤器 PUPSIT 的要求如表 1 所示。

3　实施 PUPSIT 的利弊分析

目前，国内外专家及检查员对除菌滤器是否要在使用前开展完整性测试存在争议。因为 PUPSIT 本身会增加系统本身的无菌风险，其测试操作本身对过滤下游存在污染的风险（例如：额外增加的气、水排放管路和阀门等），但有效实施 PUPSIT 也有利于降低产品报废的风险、提高使用者安全性。基于此，部分专家认为，除菌滤器在湿热灭菌确认中不仅要关注灭菌效果，还要确定使用的灭菌参数是否在除菌滤器生产厂家推荐的范围内，并且确认除菌滤器在灭菌过程中不会被破坏。如果上述确认不充分或是使用者操作不当，都可能会造成滤器变形，如孔隙结构改变、孔径变大或产生微小缺陷，导致完整性测试结果不合格。因此，滤器灭菌后实施完整性测试非常必要[8]。而另一部分专家及检查员考虑了 PUPSIT 在实际执行过程中的复杂性及可能引入污染的风险，认为无需强制要求。

因此，在新修订的《欧盟 GMP 附录 1 无菌药品生产》[1] 正式稿发布之前，PUPSIT 的实施一直存在较大争议，各个国际机构及国家的检查员都高度关注此争议并进行了多次讨论。例如，PDA 对欧盟 GMP 附录 1 的建议 (PDA Releases Comments on Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal) 中表述：

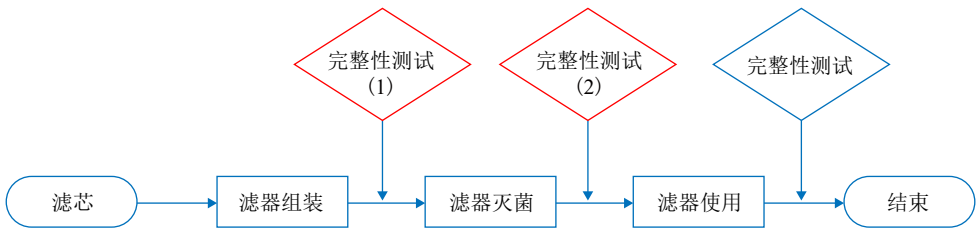


图 1　完整性测试的时间位点

Fig.1　Timing of Integrity Tests

表 1 国内外相关法规及指导原则

Tab.1 Relevant Regulations and Guidelines at Home and Overseas

发布机构	法规名称	法规要求		参考文献
		使用前	使用后	
WHO	《WHO TRS 1044 附件 2 WHO 无菌药品生产规范》			[2]
ISO	《ISO 13408-2: 2003(E) 卫生保健产品的无菌工艺 - 第 2 部分：过滤》	完整性测试(灭菌后)	完整性测试	[3]
国际药品检查组织(PIC/S)	《PIC/s GMP 附录 1 无菌药品生产（2022 版）》			[4]
欧盟EMA	《欧盟 GMP 附录 1 无菌产品生产》(2022 年版)	完整性测试(灭菌后，可采用替代法)	完整性测试	[1]
FDA	《FDA cGMP》	—	完整性测试	[5]
国家药品监督管理局	《药品生产质量管理规范（2010 年版）附录 1 无菌药品》			[6]
美国注射剂协会(PDA)	《PDA TR26 液体除菌过滤》	完整性测试(灭菌前、后均可)	完整性测试	[7]
国家药典委员会	《中华人民共和国药典三部》(2020 年版)	完整性测试	—	—

强烈建议修改除菌滤器要求开展 PUPSIT 的内容，认为对基于风险评估实施的控制措施进行充分记录可解决滤器潜在的设备组装以及生产中误操作导致过滤故障的问题，通过评估来确定 PUPSIT 是否有助于提高无菌保证。综合考虑产品特性（如放射性产品）、设备改造风险等因素，2022 年 8 月发布的《欧盟 GMP 附录 1 无菌药品生产》[1] 汲取各方面的建议，要求若受工艺限制（如溶液的过滤体积较少）无法开展完整性测试，在进行充分的风险评估并采取控制措施的基础上，可采用替代方法。

4 行业现状

由于完整性测试是除菌滤器制造商的放行标准，并且其运输包装已经过彻底测试，因此，在使用后测试完整性的企业占比为 100%，在使用前、灭菌前测试完整性的企业占比为 10%～20%，在使用前、灭菌后测试完整性的企业占比仅为 5% [8]。目前，国内大多数制药公司还未实施 PUPSIT，可能有部分通过 WHO 预认证或欧盟认证的企业，依相应要求对半成品除菌滤器进行 PUPSIT。

5 实施 PUPSIT 所需的技术改造及风险

如对既有线上无菌滤器新开展 PUPSIT，需改造设备、增加在线完整性测试系统，通过硬件改造实现滤器在线灭菌。测试已灭菌滤器的完整性要求在润湿滤器的同时保证滤器下游的无菌性，且测试用气体也同样需要在下游排空。即需要用无菌注射用水润湿来保证上游端的无菌，还需要在完整性测试检测仪器和滤器间设置无菌屏障。在不破坏过滤系统无菌性的条件下进行 PUPSIT 难度较大。整个过程设计复杂且容易引入新的污染风险，破坏已灭菌滤器的无菌性，进而影响产品的无菌性，可能导致的污染风险会高于不检测的风险。已有公司开发出新型滤芯完整性测试系统，能避免反流污染主管道，利于控制微生物风险。

无论使用上述何种方式，从设计、改造到安装、调试、使用等各环节均可能存在风险，使用者应充分评估全过程各环节的风险，并制定相应措施降低风险。若采用改造设备的方式实现灭菌后的在线完整性检测，可能存在的风险有：(1) 管道焊接不严，出现“跑、冒、漏”现象；(2) 管路清洗效果不佳，造成交叉污染；(3) 无法实现除菌滤器系统的有效灭菌；(4) 滤器润湿不彻底导致检测失败、系统及操作有微生物污染的风险等。可针对上述风险开展以下措施：设备保压测试、清洁验证、灭菌效果验证、设备确认、培养基模拟灌装验证等。在检测过程中，应使用无菌润湿液及无菌气体，并且排水和排气管路应设置屏障滤器。

6 结语

除菌滤器实施 PUPSIT 有利有弊，企业在开展除菌滤器的 PUPSIT 时，如何选择测试的时间点，主要取决于产品本身的特性及工艺需求。有研究显示可以依据除菌滤器使用前后的泡点值变化情况确定开展 PUPASIT 的必要性 [9]。国家药品监督管理局继 2017 年加入 ICH 后，在 2021 年 9 月，正式致函 PIC/S，申请启动预加入程序，逐步推动药品监管能力与国际接轨的进程。因此，我国势必会逐渐与同属成员国采取同等的监管标准。鉴于 PIC/S、

欧盟及WHO已联合发布的《无菌产品生产》，国内法规及药品监管机构也将逐步倾向于要求企业开展PUPASIT。

建议企业依据自身战略规划，考虑产品是面对国内市场还是国外市场，基于产品质量及安全性风险评估结果做出抉择。风险评估应考虑除菌滤器的灭菌工艺（温度、压力、时间等灭菌参数），已灭菌滤器的来源及运输过程（委托方灭菌场所、包装、运输等）、工艺知识（产品特性、除菌过滤前的预处理等）。

参考文献：

[1] EMA. EudraLex The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products [EB/OL]. (2022-08-22) [2023-02-13]. https://health. ec. europa. eu/system/files/2022-08/20220825_gmp-an1_en_0. pdf.

[2] WHO. TRS1044 Annex 2 WHO Good Manufacturing Practices for Sterile Pharmaceutical Products [EB/OL]. (2022-12-22) [2023-02-13]. https://www. who. int/publications/i/item/9789240063822.

[3] ISO. ISO 13408-2:2018(E), Aseptic Processing of Health Care Products Part2: Sterilizing Filtration [EB/OL]. (2018-01) [2023-02-13]. https://www. iso. org/standard/66452. html.

[4] PIC/S. Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products [EB/OL]. (2022-09-09) [2023-02-13]. https://picscheme. org/docview/4737.

[5] FDA. Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice [EB/OL]. (2004-09) [2023-02-13]. https://www. fda. gov/media/71026/download.

[6] 国家药品监督管理局. 药品生产质量管理规范(2010年修订)附录1无菌药品[EB/OL]. (2011-02-24) [2023-02-13]. https://www. nmpa. gov. cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20110224164501312. html.

[7] PDA. Technical Report No. 26 Revised 2008 Sterilizing Filtration of Liquids [EB/OL]. (2008) [2023-02-13]. https://techpubportal. pda. org/publication/?i=474590.

[8] JORNITZ M W. Preuse/poststerilization integrity testing of sterilizing grade filter [M]//GORSKY I, BASEMAN H S. Principles of Parenteral Solution Validation. Amsterdam: Elsevier, 2020: 233-242.

[9] GUPTA V S, JINDAL J, GUPTA A, *et al*. Pre-use/poststerilization integrity testing (PUPSIT): to do or not to do? [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2020, **74**(3): 301-308.

（上接第1359页）

参考文献：

[1] 曾宪国, 郭　珩, 吴海波, 等. 洛索洛芬钠的合成[J]. 中国医药工业杂志, 2017, **48**(1): 12-15.

[2] 张兴贤, 胡克斌, 周敦峰, 等. 洛索洛芬钠的合成新方法研究[J]. 中国药物化学杂志, 2010, **20**(1): 25-28.

[3] 杨　艳. 长期口服非甾体抗炎药患者的胃肠道和心血管不良反应防治策略研究[J]. 临床医药文献杂志, 2019, **6**(18): 197.

[4] 陈晓涛, 刘　晨. 外用洛索洛芬钠治疗急慢性疼痛的荟萃分析[J]. 中国处方药, 2021, **19**(9): 68-70.

[5] 胡曼曼, 刘金来, 李笑慧, 等. 洛索洛芬钠贴片的研制及质量控制[J]. 中国药师, 2014, **17**(5): 755-757.

[6] 邓　滢, 郭利民, 钟世华, 等. 紫外分光光度法测定洛索洛芬钠片的含量[J]. 中国当代医药, 2010, **17**(14): 40.