药学管理与信息

生物制品无菌保证的特殊性分析与探讨

Analysis and Discussion on the Special Characteristics of Sterility Assurance for Biological Products

胡敬峰[1#]，刘　荣[1#]，周　勇[1]，冯巧巧[1]，杨敬鹏[2]，颜若曦[2*]

（1. 山东省食品药品审评查验中心，山东济南 250014；2. 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心，北京 100076）

HU Jingfeng[1#], LIU Rong[1#], ZHOU Yong[1], FENG Qiaoqiao[1], YANG Jingpeng[2], YAN Ruoxi[2*]

(*1. Shandong Center for Food and Drug Evaluation & Inspection, Jinan 250014; 2. Center for Food and Drug Inspection of NMPA, Beijing 100076*)

摘要：生物制品具有分子结构复杂、生物学活性易变和理化特性多样等特点，同时其生产工艺复杂、生产周期长，生产中使用的各种原、辅材料亦来源多样，且制品组分一般不能耐受终端灭菌处理，导致其无菌保证方面存在特殊性。文章阐述了无菌药品生产中微生物、热原和微粒等的污染控制策略，并重点探讨和分析了生物制品生产的无菌保证特殊性，以促进行业提高生物制品的无菌保障能力和水平，确保生物制品安全。

关键词：生物制品；无菌保证；污染控制策略；微生物；培养基模拟灌装

中图分类号：TQ464；R954　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2024)10-1426-04

引用：胡敬峰，刘　荣，周　勇，等．生物制品无菌保证的特殊性分析与探讨［J］．中国医药工业杂志，2024, 55(10)：1426-1429．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.10.016

生物制品是指以微生物、细胞、动物或人源组织和体液等为起始原材料，用生物学技术制成，用于预防、治疗和诊断人类疾病的制剂，可分为预防用生物制品、治疗用生物制品、按生物制品管理的体内和体外诊断试剂 4 大类，包括疫苗、血液制品、细胞因子、单克隆抗体、细胞治疗产品、基因治疗产品、抗毒素及抗血清等。截至 2022 年底，全国有生物制品企业（生产许可证含 s 或 d 的分类码）344 家，有效的生物制品批准文号 1 735 个。据统计，2022 年全球年销售排名前 10 位的重磅产品中有 8 个是治疗用生物药物，除抗新型冠状病毒药物外，阿达木单抗（Humira）、帕博利珠单抗（Keytruda）、度普利尤单抗（Dupixent）、阿柏西普（Eylea）已连续多年进入全球 TOP10 药物榜单[1]，说明生物制品在现在的疾病治疗中发挥着举足轻重的作用。

生物制品作为一类特殊的药品，与传统的化学药物不同，具有分子结构复杂、生物学活性易变和理化特性多样的特点[2]。生物制品来源多涉及活的生物体，生产工艺复杂、生产周期长，生产中使用的各种原料和辅料亦来源多样，且制品组分一般不能采用苛刻的终端理化处理。这些特殊性使外源因子，特别是潜在的病毒与微生物污染成为生物制品质量控制中的挑战[3]。

基于生物制品生产工艺及过程控制的特点，本文重点阐述无菌生产中的污染控制策略，对生产过程中无菌保证的特殊性进行探讨和分析，以促进行业有针对性地提高生物制品的无菌保障能力和水平，确保产品质量安全。

1　生物制品的一般生产流程

生物制品生产通常分为上游工艺、下游工艺、

对文章贡献等同。

作者简介：胡敬峰（1989—），男，高级工程师，从事药品质量管理、药品检查的研究。

刘　荣（1986—），男，主管药师，从事药品质量管理、生产检查的研究。

通信作者：颜若曦（1983—），男，主任药师，从事药品质量管理、药品检查的研究。

E-mail：sssyrx@163.com

制剂工艺 3 个技术阶段。上游工艺一般包括细胞库 / 菌种库 / 毒种库的制备、复苏、传代扩增、大规模培养、收获等步骤。其中，大规模培养工艺主要有流加补料（fed-batch）培养、灌流（perfusion）培养、浓缩流加补料（concentrated fed-batch）培养等方式。下游工艺一般包括离心、多步柱色谱、病毒去除或灭活、超滤等步骤，最终目的是获得符合质量要求的原液。制剂工艺一般包括半成品配制、除菌过滤、分装、冻干、轧盖、灯检、包装等步骤，最终目的是制得符合质量要求的成品。

与常见的化学药品无菌生产不同，生物制品的上游工艺和制剂工艺都涉及无菌生产要求，且如果产品不能进行除菌过滤，那么下游工艺也需要无菌生产。从工艺流程来看，生物制品的生产工艺复杂、生产周期较长（如单抗生产周期通常在 1 个月以上），无菌风险点较多，因此需要对每一个生产环节都制定稳健的控制策略，确保最终产品能够满足质量标准的要求。

2 生物制品无菌保证的特殊性

2.1 生产中易被微生物污染

生物制品因特殊的生产、加工过程，易被微生物污染 [4]。例如，生物制品的起始材料为生物活性物质，且其生产涉及生物过程和生物材料，易受内源、外源因子污染。生物制品的生产和加工过程是生物学过程，培养中所用的物料、培养工艺也都适宜微生物生长。此外，生物制品产品本身也是微生物生长的营养物质。

鉴于以上特点，对生物制品生产的全过程进行风险评估、识别存在微生物污染产品的风险点、制定污染控制策略非常重要。厂房、设施的设计应能避免污染，人员、物料的流向应该避免交叉，人员的操作应符合规范以最大限度减少污染概率，生产工艺应建立降低微生物负荷和细菌内毒素水平的步骤，原料和辅料应适当进行微生物和细菌内毒素检测，以全面加强对生物制品生产过程污染的控制。

2.2 不能进行最终灭菌处理

无菌药品按生产工艺可分为 2 类，采用最终灭菌的产品，以及部分或全部工序采用无菌生产工艺的非最终灭菌的产品。生物制品除个别微生态制剂和诊断试剂外，均为无菌药品，且都是非最终灭菌产品，无菌保证风险较高。非最终灭菌产品又分为可除菌过滤的产品和不可除菌过滤产品。对于不可除菌过滤的产品，需要通过全程无菌操作工艺进行生产。因此其无菌保证风险更高，生产过程中的微生物控制和无菌操作成为保证产品无菌的关键。

鉴于生物制品最终处理的特殊性，生产过程的微生物污染控制不能仅局限于除菌过滤及之后的制剂阶段，对于最终除菌过滤前的原液生产及半成品配制阶段，均应制定详细的污染控制策略，以尽可能降低污染发生的概率。同时，应关注对细菌内毒素等热原物质的控制与监测。对于生产全过程均需无菌生产的产品，更需要从生产过程的起始阶段就执行无菌控制要求，对每一个可能引入污染的风险环节做到仔细识别、严格管控。

2.3 上游工艺无菌保证的特殊性

控制微生物的污染是细胞 / 细菌 / 病毒培养成功与否的关键因素，上游工艺中的建库、复苏、传代、接种、培养等步骤一旦被微生物污染，会导致培养失败。而以上步骤的敞口操作较多，因此，无菌的操作环境和培养环境是确保上游工艺培养成功的首要条件。

细胞 / 细菌 / 病毒的建库及复苏、传代操作通常在 C+A 级的生物安全柜中进行，而传统意义上认为无菌环境背景至少为 B 级区。因此，此情况下无菌保证水平的控制和环境确认均存在一定的难度，从而使复苏、传代的无菌保证存在较大挑战。与此相对应的，需要采取一系列措施，如与细胞接触的物料和工器具等灭菌使用、人员按照无菌操作要求进行生产实践、生产时对有敞口操作的区域进行持续环境监测等，以最大限度地保持上游生产过程的无菌性。目前，部分企业在生产中使用隔离器进行复苏和传代操作，无菌保证水平得到大幅提高。

细胞 / 细菌 / 病毒的培养过程通常在密闭系统中，使用一次性系统或不锈钢系统进行培养。培养还要求无菌环境。因此，密闭系统和无菌环境如何同时实现是培养阶段中至关重要的考虑点。不锈钢系统经

过在线灭菌后保持无菌水平的时间需要经过充分验证；一次性使用系统中暴露部分采用的无菌接管、无菌切管、无菌连接头等连接技术应能够确保无菌保证水平，对无菌对接或以适当方式防止污染的有效性应进行充分验证。无菌连接技术的对接过程应不受外界环境等因素的影响，能快速、有效地完成可靠的连接，同时可将无菌对接过程中发生污染和交叉污染的风险降至最低，保证产品质量不受影响[5]。一次性的储液袋或储液瓶具有免清洗灭菌、无需清洁验证、使用便利等优点，既能为共线生产带来便利，也可降低生产过程中发生交叉污染的风险，提高生产效率，是目前行业内细胞 / 细菌 / 病毒培养过程中使用较多的储存容器。因此，对用于细胞或收获液的一次性无菌储液袋的无菌保证能力的确认也成为一个新的焦点[6]。

2.4 下游工艺无菌保证的特殊性

下游纯化阶段一般要控制微生物限度，但无法除菌过滤的产品应在生产全过程采用无菌生产工艺。色谱和超滤方法是生物制品下游纯化生产常用的技术手段，色谱和超滤系统应建立相应的清洁与消毒程序并经过验证，以确保微生物得到有效控制。确保工艺过程中使用的一次性系统的无菌性与密封性非常重要。中间产品的暂存条件与时间也是控制微生物的重要因素，微生物会随着时长而增殖，暂存时间应成为生产过程控制的一部分。

原液的配制、分装、贮存过程均有可能引起微生物负荷的变化，过程中使用的物料及容器的外源因子及无菌控制对此具有关键作用，可通过过滤前微生物限度检测、过滤后对滤器完整性的测试、原液贮存过程中开展的容器密封性验证等方式确保过程中微生物控制的有效性。有些产品的注册标准中原液有无菌检查项目，在这种情况下，原液的生产也应按无菌进行控制。

2.5 制剂工艺无菌保证的特殊性

在制剂工艺阶段，生物制品的生产与化学无菌药品的生产基本一致，但考虑到生物制品是微生物生长的良好培养基，需要比化学药品更加关注无菌保证能力。在灭菌系统验证、人员更衣验证、环境监测合格、培养基模拟灌装验证合格的前提下，人、机、料、法、环各大系统都必须保持验证状态并遵循严格的无菌保证措施。

制剂工艺中应建立有效的污染控制策略，针对各方面采取措施避免微生物、热原和微粒污染。在人员污染控制方面，应规范洁净区内人员更衣、着装和操作；设备与组件污染控制方面，应充分确认关键性生产设备，充分验证消毒剂效力，充分评估及管理清洁验证，保证直接接触物料与中间产品的工器具清洁、灭菌合理；设施环境污染控制方面，关键区域厂房及设施的设计、维护和使用过程监测应符合无菌要求；物料污染控制方面，应对关键物料运输与转移过程采取控制措施，并对物料进行微生物或细菌内毒素检测；生产工艺过程污染控制方面，中间产品除菌过滤前应进行微生物负荷检测，以控制中间产品过程转移与贮存中的污染风险[7]。

2.6 无菌工艺模拟的特殊性

无菌工艺模拟试验是采用适当的培养基或其他介质，模拟药品生产中无菌操作的全过程，评价该工艺无菌保障水平的一系列活动[8]。

生物制品除在制剂阶段需要进行无菌工艺模拟试验外，上游工艺也存在无菌操作步骤。企业也应考虑对上游工艺的无菌操作开展无菌工艺模拟。部分生物制品无法除菌过滤，需要全生产过程无菌操作，这种情况下还应对下游工艺开展无菌工艺模拟试验。部分生物制品在半成品生产阶段也需要无菌操作，例如对于很多含佐剂的疫苗，佐剂的生产和加入过程也是生物制品无菌工艺模拟重要的一部分。

3 讨论

在生物制品无菌保证特殊性分析的基础上，本文基于质量源于设计（quality by design，QbD）科学理念，合理运用风险评估、全过程质量控制和全生命周期管理等手段，以保障制品安全、有效、质量可控的总体要求为目的，依据国内生物制品行业发展现状和技术水平，结合国内外现有技术指南和法规要求，对生物制品的无菌保证提出意见建议。

3.1 有效识别生物制品生产中的无菌风险

有效识别生物制品生产各阶段的无菌风险是确

保产品不受微生物、热原和微粒等的污染的关键。

物料的质量控制情况关系到产品的最终质量。血清、培养基、辅料等均一定程度上有助于微生物生长，应有效识别其来源合规性方面的风险。如动物来源的物料应避免从传染性海绵状脑病（transmissible spongiform encephalopathy，TSE）、牛海绵状脑病（bovine spongiform encephalopathy，BSE）多发区的地区采购，并应制定相关微生物控制的策略，以防止引入污染；种子库的无菌风险主要存在于其制备和贮存过程，在确保其活力和稳定性的前提下，应避免受到外界的污染；发酵过程中的设备和设施对于维持发酵培养过程的无菌性非常重要，应具有密封性，避免其他微生物引入的风险；纯化阶段应关注中间产品敞口操作的风险，采用除菌过滤的方式降低微生物的负荷；制剂阶段应关注人员操作、环境、设备等引入污染的可能，确保产品无菌水平。

3.2 针对性控制生物制品生产中的无菌风险点

生产全过程的无菌水平是制品取得成功的关键，加强全过程的无菌保证需做好以下几个方面。

在上游工艺阶段，除控制合适的温度、溶氧、pH 值等条件保证细胞正常代谢及增殖外，从种子复苏到细胞的逐级扩增过程中尽可能地应用无菌技术，操作人员严格遵守标准操作程序，保持操作环境的洁净度，并对中间种子液设置细菌内毒素及微生物的中控指标。

在下游工艺阶段，对于可除菌过滤的制品，建议收获液经 0.2 μm 无菌过滤器除菌过滤，以有效降低进入纯化步骤的微生物限度，且各步色谱及中间步骤均应设置除菌过滤步骤，并设定细菌内毒素和微生物限度的中控指标；对于无法除菌过滤制品，过程严格按照无菌操作要求进行生产。

在制剂工艺阶段，应严格按照无菌要求对设施、设备和工艺进行适当的设计、确认与验证，并持续进行确认；采用适当的无菌保障技术［如无菌对接与断开技术、restricted access barrier system（RABS）、隔离器等］，加强对产品制剂生产的无菌保证，可防止微生物、内毒素或其他污染对产品的影响；加强对过程环境的快速检测，及时发现过程中的异常情况及趋势；加强对无菌区域人员的培训，以满足无菌操作要求。

在生物制品生产全过程中应实施污染控制策略（contamination control strategy，CCS），评估关键质量控制点，监测药品安全的所有控制措施，从而有效识别、评估、消除及控制污染的风险，尽可能地降低生产过程的污染，保证产品的安全[9]。

3.3 建立生物制品全生命周期的无菌保证管理理念

质量风险贯穿于药品的研发、生产、使用、退市的全生命周期，也贯穿从原料和辅料的购买、贮存到产品生产，再到运输、患者使用等全过程。由于生物制品生产过程复杂，且表征难度较大，因此对其进行风险评估更具挑战性。

降低生物制品生产过程引入污染的风险，除对生产工艺进行良好的设计、验证和日常控制之外，原液、中间品和成品等各阶段的微生物检查也是重要的手段，并应将无菌保证按照全生命周期进行管理。

欧盟 GMP 附录 1《无菌药品的生产》对药品全生命周期中的风险管理提出了明确要求，应对药品生产过程中的质量风险进行评估、控制、沟通、审核，从而控制风险达到可接受的程度。这一要求从法规到技术层面都体现出药品监管的与时俱进。同时，欧盟 GMP 附录 1 对生产技术、厂房设施、仪器设备等都提出了新的要求，对无菌保证能力有了更高的标准[10]。在此背景下，生物制品企业应基于全生命周期的无菌保证理念建立 CCS，并定期评估其有效性和合理性，分析各环节潜在的污染可能性，从而达到控制污染的目的。

参考文献：

[1] 沈家文. 我国生物创新药发展战略与政策思考 [J]. 中国经贸导刊, 2023, (3): 64-67.

[2] 王冠杰, 邵明立. 从质量控制角度探索生物制品行业设备规范化管理 [J]. 中国生物制品学杂志, 2022, **35**(5): 637-640.

（下转第 1441 页）

中药药学变更研究技术指导原则（试行）》的通告［EB/OL］.（2021-04-01）［2024-05-22］. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/67cf09282a5159c6b7a78429983ea6b1.

［13］ 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《已上市生物制品药学变更研究技术指导原则（试行）》的通告［EB/OL］.（2021-06-25）［2024-05-22］. https://www. cde. org. cn/main/news/viewInfoCommon/7ef3a0d630aea8a49186f49f31a6fd3c.

［14］ 中国医药包装协会.《药包材变更研究技术指南》：T/CNPPA 3009-2020［EB/OL］.（2020-05-29）［2024-05-22］. https://www. cnppa. org/index. php/Home/Bz/show_2019/id/1124. html.

（上接第 1429 页）

［3］ 国家药品监督管理局. 国家药监局关于发布《药品生产质量管理规范（2010 年修订）》生物制品附录修订稿的公告（2020 年第 58 号）［EB/OL］.（2020-04-26）［2023-11-20］. https: //www. nmpa. gov. cn/xxgk/fgwj/xzhgfxwj/20200426172601351. html.

［4］ 范文平，赵宏大，谢 文. 生物制品无菌检查试验方法发展方向的探讨［J］. 中国药师，2014, **17**(1): 158-160.

［5］ 史 磊，宋 薇，王天予，等. 无菌连接技术在疫苗生产中的应用［J］. 化工管理，2017, **35**(12): 167-168.

［6］ 高 倩，江 洪，叶 茂，等. 全球单克隆抗体药物研发现状及发展趋势［J］. 中国生物工程杂志，2019, **39**(3): 111-119.

［7］ 颜若曦. 无菌药品污染控制策略要点探析［J］. 医药导报，2023, **42**(9): 1424-1429.

［8］ 胡敬峰，韩 莹. 无菌工艺模拟试验中存在的问题与对策［J］. 中国药事，2019, **33**(12): 1395-1399.

［9］ 唐文燕，张 闯，颛孙燕. PIC/S GMP 无菌药品附录对我国无菌药品检查的影响［J］. 中国药事，2023, **37**(5): 499-503.

［10］ 胡敬峰，明 奕，王金子，等. 欧盟与我国 GMP 无菌药品附录差异分析与探讨［J］. 药学研究，2023, **42**(8): 636-640.