

# 无菌工艺模拟试验指南（无菌原料药）

二〇一八年九月

## 附件 2

# 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，确保无菌原料药的安全性，依据《药品生产质量管理规范（2010年修订）》及附录，制定本指南。

## 2. 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其他介质，模拟原料药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。

## 3. 范围

3.1 本指南涵盖了无菌工艺模拟试验的基本要求、不同工艺模式的相应要求、试验的基本流程和结果评价等内容，适用于无菌原料药的无菌工艺验证。

3.2 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，进一步提高无菌原料药的无菌保障水平。

## 4. 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：

4.1 基于无菌工艺设计，对无菌生产全过程实施风险评估，识别生产过程风险点，评估现有控制措施的有效性。模拟试验方案设计时，应充分考虑风险评估的结果。

4.2 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，应特别关注暴露操作、人工干预等高风险过程。

4.3 如生产线有多种无菌生产工艺，应采用风险管理的模式，在综合评价不同无菌生产工艺的基础上设计模拟试验方案，以评价每种无菌工艺过程的可靠性。

4.4 如无菌生产工艺存在显著差异，宜对每种工艺开展模拟试验。

## 5. 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：无菌结晶工艺、无菌冷冻工艺和无菌喷雾干燥工艺。

### 5.1 无菌结晶工艺

典型的无菌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。

#### 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：

5.4.1.1 能够实现在线灭菌（SIP）或系统在使用前进行密闭和灭菌。

5.4.1.2 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。

5.4.1.3 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，“开放”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。

### 6. 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，模拟试验实施应关注以下几方面：

#### 6.1 开展模拟试验的前提条件

开展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等验证已完成，并达到了可接受的标准。

6.1.1 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、运行确认及与无菌生产有关的性能确认。

6.1.2 已对工艺设备、公用系统、辅助设施等的灭菌方法完成了相应的验证，物料及厂房、设施所用消毒剂及消毒方式完成了相关的验证。

6.1.3 药液及与产品接触的气体、设备组件、容器具灭菌工艺完成了相应的验证。

6.1.4 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。依据规定的消毒方法和频次进行环境消毒，应避免消毒

剂的过度使用。

6.1.5 根据无菌生产工艺要求建立了相关文件。

6.1.6 参与无菌工艺模拟试验的人员接受了药品 GMP、无菌更衣、无菌操作、微生物知识和模拟试验方案的培训。

6.1.7 进入无菌洁净区的全部人员通过了更衣程序的确认，并采取文件或其他措施，确定了每位参与者可进入的区域和允许的无菌操作项目。

## 6.2 基于无菌风险的模拟试验方案设计

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。

### 6.2.1 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工艺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，方案设计时充分考虑风险评估的结果。

6.2.2 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。

6.2.3 证实人员的无菌操作能力能够满足无菌生产要求，是实施模拟试验的目的之一。模拟试验方案设计时，应结合工艺过程中的开放系统，重点考察人员的无菌操作过程，评价人员无菌

操作素养和防护措施的可靠性。

### 6.3 模拟介质的选择与评价

#### 6.3.1 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全过程。不应选择明显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和安慰剂。

#### 6.3.2 培养基的选择

6.3.2.1 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。

6.3.2.2 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），也可选择其他适宜的培养基。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，应考虑增加厌氧培养基开展模拟试验。

6.3.2.3 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。

6.3.2.4 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 BSE（可传染性海绵脑病）、TSE（疯牛病）等风险，亦可选用植物来源的培养基。

### 6.3.3 培养基的配制

6.3.3.1 模拟试验的培养基应在适宜区域进行准备，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。通常按照药典要求或厂商提供的配制方法配制培养基。配制后的培养基应尽快灭菌或除菌过滤。

6.3.3.2 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和使用条件应遵循生产商要求。

### 6.3.4 培养基的除菌与灭菌

#### 6.3.4.1 除菌过滤

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。如因培养基颗粒或生物负载较大等原因引起除菌过滤器堵塞时，可增加预过滤。应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的降低。此外除菌过滤的方式无法避免支原体污染，湿热灭菌或辐照灭菌有助于降低该潜在风险，必要时可配合除菌过滤联合使用。针对以上情况应进行风险评估并采取合理应对措施。

#### 6.3.4.2 湿热灭菌

在湿热灭菌过程中应考虑避免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，也可使用无菌干粉或液体成品培养基。

灭菌过程应遵循生产商推荐的灭菌时间和温度的建议，并对灭菌过程予以验证。确保灭菌后培养基的促生长能力，避免过长

时间及过热灭菌使培养基碳化造成其促生长性能的降低,应进行促生长能力试验。

#### 6.3.4.3 辐照灭菌

使用辐照灭菌的培养基粉末,应在适宜环境下进行配制等操作。辐照灭菌过程应经过验证,并在产品质量报告中体现验证所用的菌种和剂量等信息。

#### 6.3.5 培养基促生长能力试验

6.3.5.1 应在无菌工艺模拟试验前及 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。

6.3.5.2 按照中国药典要求,培养基促生长能力试验使用的菌种包括: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)和生孢梭菌(CMCC64941)等。除标准菌株之外,还可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小于 100CFU。按照中国药典要求进行培养,证明培养基能够支持微生物的生长。

#### 6.3.6 其他模拟介质的选择及评价

##### 6.3.6.1 其他模拟介质的选择

对于无菌粉末及特殊产品,可根据产品特性、无菌工艺、生产设备及模拟介质特点,也可选用其他模拟介质,如安慰剂。模拟介质的流动性应尽可能类似于被模拟产品,易于灌装/分装等无菌操作。模拟介质还应具有易于灭菌,无抑菌性,易溶解等特性。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。模拟介质的包装形式应与被模拟产品的包装形式保持一致。

#### 6.3.6.2 其他模拟介质的评价

在使用模拟介质前应对其适用性进行确认，包括抑菌试验、溶解度试验等，如选用无菌模拟介质还应进行无菌试验。抑菌试验通常使用枯草芽孢杆菌（CMCC63501）和白色念珠菌（CMCC98001）。除此之外，还应考虑加入环境和无菌检查中发现的典型微生物。无菌模拟介质用无菌水分散后，加入到无菌培养基中，达到模拟工艺选用的浓度范围，然后每份培养基中接种 10—100CFU。阳性对照接种到不含无菌模拟介质的试管中，按照现行中国药典要求培养 7 天，所有试管应明显微生物生长。

### 6.4 模拟灌装的数量和持续时间

6.4.1 无菌工艺模拟灌装的数量应足以保证评价的有效性并完成模拟方案中设计的各种干预活动，通常模拟灌装的数量不宜低于正常生产分装数量。

6.4.2 应对所设计的模拟方式、持续时间、灌装的数量、预期收率作出合理说明。

6.4.3 模拟试验所用模拟介质的量，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。

6.4.4 考虑到模拟最差条件的需要，模拟关键无菌操作过程的维持时间不应低于实际生产用时。

## 6.5 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。适宜的装量既可保证产品通过倒置和旋转接触到容器所有内表面，又有足够的氧气支持微生物的生长。

## 6.6 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，并确定采用连续工艺模拟还是分段模拟。

### 6.6.1 连续工艺模拟方式

6.6.1.1 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。

6.6.1.2 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、密封等过程的模拟。

6.6.1.3 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。

### 6.6.2 分段模拟方式

6.6.2.1 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，如结晶工艺，可根据需要变换采用液体或固体模拟介质，保持与实际工艺过程的一致性。

6.6.2.2 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。

6.6.2.3 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。

## 6.7 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的最差条件。包括但不限于以下方面：

### 6.7.1 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他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。

### 6.7.2 时限

应适当考虑模拟实际生产操作过程中房间、设备、物料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。

### 6.7.3 分装速度

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。如模拟最长的暴露时间或模拟最大操作强度/难度。

### 6.7.4 环境

6.7.4.1 模拟试验挑战的最差环境，应考虑选择无菌生产周期的末端，或连续生产期间，环境消毒周期性内最长的时间间隔。

6.7.4.2 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。

## 6.8 干预设计

### 6.8.1 概念

干预是指由操作人员按照相关规定参与无菌工艺生产有关的所有操作活动。干预可分为固有干预和纠正性干预。固有干预是指常规和有计划的无菌操作，如环境监控、设备安装或容器更换等；纠正性干预是指对无菌生产过程的纠正或调整，如更换部件、设备故障排除等。

### 6.8.2 原则

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。

### 6.8.3 干预类型及频次

6.8.3.1 模拟试验方案中应明确规定固有干预和纠正性干预（如维修、故障停机、设备调试）的类型、频次。

6.8.3.2 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的模拟。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。

6.8.3.3 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。

6.8.3.4 对于无菌取样过程，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。

### 6.8.4 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，能够按规定的程序实施各种干预。标准化的固有干预可由部分操作人员实施并据此评价其他人。对于复杂操作，如分装机装配或故障排除等，每个从事此类操作的人员都应在试验过程进行模拟，操作条件不应优于日常生产的操作条件。

### 6.8.5 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，在模拟试验时也可剔除，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。

## 6.8.6 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和发生频率等信息。

## 6.9 容器规格

对于生产线存在多种相似的容器规格(如:同一品种的不同容器规格)时,应通过风险评估选择模拟的容器规格,通常选择最小和最大尺寸的容器进行模拟。特殊规格的容器应考虑单独进行模拟。

## 6.10 培养与观察

### 6.10.1 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)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或其他便于培养、观察的介质上,之后滤膜或其他介质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。

### 6.10.2 培养条件

6.10.2.1 应对容器翻转、倒置等,确保培养基接触容器(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。在整个培养期间应连续监控培养温度。

6.10.2.2 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，避免影响微生物生长。

6.10.2.3 如必须采用惰性气体用于模拟厌氧无菌工艺（氧气浓度低于 0.1%）及培养厌氧微生物，应确认惰性气体与所选培养基的组合，能够支持微生物的生长。

### 6.10.3 培养后的检查

6.10.3.1 培养结束后，应对所有模拟灌装产品逐一进行无菌性检查，通常应在合适的照度下进行目视观察。

6.10.3.2 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。

6.10.3.3 培养容器不透明时，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。

### 6.11 计数与数量平衡

为保证模拟试验结果的可靠性，应对各阶段灌装数量进行准确计数，如灌装数量、干预剔除数量、培养前数量和培养后无菌检查数量，各阶段数量应平衡。如发现不平衡，应调查原因并判断本次模拟试验结果的有效性。

### 6.12 环境及监控

#### 6.12.1 环境监控方案设计

应通过风险评估确定日常生产环境监控的各要素，如取样

点、取样对象、取样频率、警戒和纠偏标准、实施方法等。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，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。

与实际生产过程相比，模拟试验中的环境监控应考虑增加额外的监测环节，如人员监测。

### 6.12.2 环境监控数据处理

6.12.2.1 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。

6.12.2.2 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。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。

### 6.13 人员因素

所有被授权进行无菌操作的人员，包括生产操作人员、监督人员和维修人员等，每年至少参与一次成功的无菌工艺模拟试验。

## 7. 可接受标准与结果评价

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。

7.1 应采用定性标准判定模拟试验结果，定性标准意味着模

拟试验只接受零污染的结果，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。

7.2 应通过评估确定模拟介质的预期收率，并作为模拟试验结果可接受标准之一。

## 8. 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。

8.2 可通过查看无菌工艺模拟试验的录像或现场记录，还原模拟试验过程中人员操作行为、干预及设备运行等状况，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 建议对模拟试验中发现的微生物进行鉴别，以便开展污染途径的调查，并列入企业微生物菌种库。

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。

## 9. 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。对于因停产的生产线，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，但考虑到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。但当产品无菌检查出现阳性时，不能以模拟试验结果，排除生产过程所带来的污染可能性。

10.3 模拟试验过程引入了模拟介质，存在残留或促进微生物滋生的潜在风险。因此，模拟试验完成后模拟介质应进行清洁和有效性确认。

## 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：**是一种“模拟的无菌原料药”。其物理特性与无菌原料药相似，但无促生长作用。

**FTM (Fluid Thioglycollate Medium)：**硫乙醇酸盐液体培养基，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. 参考法规与指南

- [1] 《药品生产质量管理规范》（2010 版）及附录；
- [2] 《中华人民共和国药典》（2015 版）中国医药科技出版社；
- [3] PDA technical Report No.22 Revised Process Simulation for Aseptically Filled Products；
- [4] PDA technical Report No.28 Revised Process Simulation Testing for Sterile Bulk Pharmaceutical Chemicals；
- [5] PDA technical Report No.44 Quality risk management for aseptic processes；
- [6] PIC/S Recommendation on the Validation of Processes；
- [7] ICH Q9 Quality Risk Management；
- [8] WHO Technical Report Series, No.937。