

# 用于最终灭菌药品（注射剂）的蒸汽灭菌工艺及验证指南

## 一、范围

由于蒸汽-湿热灭菌本身具备无残留，不污染环境，不破坏产品表面，并容易控制和重现等优点，被广泛应用于最终灭菌药品（注射剂）的除菌过程中。

本指南为有关人员提供最终灭菌药品（注射剂）的蒸汽灭菌柜的验证指南，以及蒸汽灭菌工艺及验证的一些操作方法的指南。

本指南依据《药品生产质量管理规范》（1998年修订）的相关准则，但本指南叙述的通用原则和方法不是法定的。本指南的着重于最终灭菌药品（注射剂）的蒸汽-湿热灭菌工艺的验证，但有些通用原则和方法对于冻干机的湿热灭菌、某些设备的在线蒸汽灭菌等可能也具备参考价值。

## 二、目的

蒸汽-湿热灭菌验证的目的，就是通过一系列验证试验提供足够的数据和文件依据，从而找到最有效最合理的灭菌参数，并把已经验证过的饱和蒸汽灭菌设备和灭菌工艺参数应用到药品生产的除菌过程中去，以证明用于药品生产过程中的每一台饱和蒸汽灭菌设备都能起到灭菌的效果，并且对不同灭菌物品的灭菌过程和灭菌效果具有可靠性和重现性，即验证结果必须证明生产中所采用的灭菌过程对经过灭菌的物品能够保证残存微生物污染的概率或可能性低于百万分之一。

蒸汽-湿热灭菌周期的设计和开发与蒸汽灭菌柜的性能以及被灭菌产品的适用性有关。蒸汽-湿热灭菌介质包含以下几种：饱和蒸汽，空气-蒸汽混合气体，过热水等等。其中：饱和蒸汽的加热速度最快，但是对于大型的软包装产品，过热水浸泡灭菌的方法效率更高，然而在过热水灭菌法中，热量的转移很大程度上依赖于容器中介质的强制运动。

饱和蒸汽是与液体状态的水保持平衡时的水蒸汽，因此饱和蒸汽只能存在于水汽的分界线上，即温度与压力之间的关系是固定的。灭菌效果是通过蒸汽，蒸汽-空气混合物，过热水等介质与灭菌物品的热传递或产生冷凝水的水合作用来实现的。

蒸汽-空气混合物与受压的水或蒸汽相比，单位体积所包含的热容量较低，但是，蒸汽-空气混合物作为灭菌介质具有能够适当调整蒸汽-空气比例达到不同结果的优点。

选择一种适合的蒸汽灭菌方式，能在满足产品本身性能的情况下取得满意的灭菌效果，但是任何一种灭菌方法，都必须在实际应用前予以验证。

## 三、定义

### 空气—蒸汽混合气体 (air-steam mixture)

灭菌用的空气和饱和蒸汽均匀混合气体。空气的作用是用于平衡密封容器内产生的超过饱和蒸汽的压力。

当蒸汽中加入空气从而产生一个高于（一定温度下）蒸汽饱和压的压力，即被称为蒸汽-空气混合物过程（SAM）。为了防止分层和装载物中形成冷点，减少蒸汽损耗，该过程（SAM）必须使蒸汽和空气不断循环。它的加热媒介是空气和蒸汽的混合物，特别适用于液体灭菌。

### 初始菌 (bioburden)

或者称为生物负载。用于定义原材料、部件、或包装等物品上所带有存活微生物的总数。

### D 值

以分钟为单位的一个生物指标，表示为对数形式。即为使某一个微生物的数量在规定条件下，减少一个数量级或 90% 所需要的时间。D 值越大，说明该微生物的耐热性越强，不同的微生物在不同环境条件下具有各不相同的 D 值。在湿热灭菌条件下，D 值主要与灭菌温度相对应。

暴露在持续的热致死条件下的微生物死亡过程，被证明可描述成一种一阶动力学反应。它引导出以下的结论：死亡基本上是一种单分子的反应。微生物的死亡速率是微生物耐热值和致死率的函数。微生物的存活曲线可以用下面的半对数式表示：

$$\log N_F = \frac{F_{(T,Z)}}{D_T} + \log N_0$$

$N_F$ : 被灭菌物品暴露 F 分钟后残留微生物的数量；

$F_{(T,Z)}$ : 灭菌周期中经计算得到的等效致死率，以一定温度下的时间（分钟）表示；

$D_T$ : 一定温度（T）下微生物的耐热值，单位为分钟；

$N_0$ : 灭菌周期开始前物品原有的微生物数量。

### Z 值

使 D 值变化一个数量级所需调整温度的度数。

### $F_0$ 值 (F 值, 致死因子)

灭菌效力的评价价值。

$F_0$  值是指一灭菌过程对微生物的致死量相当于在 121.1℃ 灭菌时的灭菌时间。一般称为标准灭菌时间。

F 值通过相应的 Z 值经计算得到的等量致死率，为在一定温度下将某微生物全部杀死所需的时间。

$F_{phy}$  值是描述致死率的值，这个值的计算是以灭菌工艺中的物理参数为基础的。 $F_{phy}$  值是致死速率（L）在时间上的累积，致死速率以相关温度和 Z 值通过以下等式计算得到：

$$L = 10^{\left(\frac{T-T_0}{Z}\right)}$$

$F_{Bio}$  值也是描述致死率的值。这个致死率是通过实际杀灭的微生物或在生物指示剂挑战试验

中测得。 $F_{BIO}$  值是  $D$  值与灭菌工艺中微生物或生物指示剂实际的对数减少量 ( $\log N_0 - \log N$ ) 计算得到:

$$F_{BIO} = D \times (\log N_0 - \log N)$$

$F_0$  值为  $Z$  值为 10K,  $D$  值为 1 分钟时, 在 121.1°C 下计算出的  $F$  值。

### **生物指示剂 (biological indicator)**

接种已知数量微生物用于测试灭菌工艺的制品。

### **化学指示剂**

化学指示剂是以非定量形式反映设备灭菌过程参数的装置。化学指示剂提供即时结果作为参数标识 (例如颜色变化), 用来表示负载或产品经过了灭菌过程。

化学指示剂不能显示产品是否无菌, 它们只能说明起始温度已经达到, 或者该温度能够持续的时间。

在湿热灭菌的验证中, 化学指示剂不能代替生物指示剂和温度/压力等的仪器测量。

### **无菌**

无微生物存活的状态。

欧洲药典用“无菌保证水平”(Sterility Assurance Level, SAL) 的概念来评价灭菌周期的效果, 采用湿热灭菌法的 SAL 不大于  $10^{-6}$ 。

### **灭菌**

经确认使产品无存活微生物的处理过程。

### **灭菌周期**

在灭菌器内所进行的各运行阶段的程序。

### **过度杀灭程序**

对于一个灭菌过程, 最坏情况生物负载的假设可以用来确定达到  $SAL = 10^{-6}$  所需要的致死率, 一般可以接受的  $F_{PHY}$  和  $F_{BIO}$  均大于 12 分钟。欧洲药典 2005 版规定的指标是生物负载不小于  $5 \times 10^5$ ,  $D_{121}$  值为 1.5 分钟, 则  $F_0$  不小于 15 分钟。

### **预真空过程**

灭菌工艺中的一个预处理过程, 在该过程中空气被真空泵或其他设备从灭菌舱室中抽走。这个方法尤其适用于能够贮存空气的物品, 例如胶管、过滤器和灌装机的附件等。

### **过热水过程**

以过热水作为加热介质的灭菌过程, 过热水被空气持续不断地循环加压, 这个过程需要压力使水保持液态。适合于液体产品的灭菌。

### **工艺验证过程**

在特定的操作环境中根据书面和已被证明的技术规范, 按照工艺过程的要求持续操作或控制, 并对获得的结果进行记录和分析整理。

## 四、产品与设备

### 产品以及包装的蒸汽灭菌适用性

产品的设计必须在经过对该产品所规定的最多次数的灭菌后，仍符合其技术规格和安全要求。若灭菌前需做某种处理（例如清洗），该种处理亦必须确认是否会影响灭菌过程和灭菌效果，若否则作为再次灭菌步骤中的一部分予以确认。

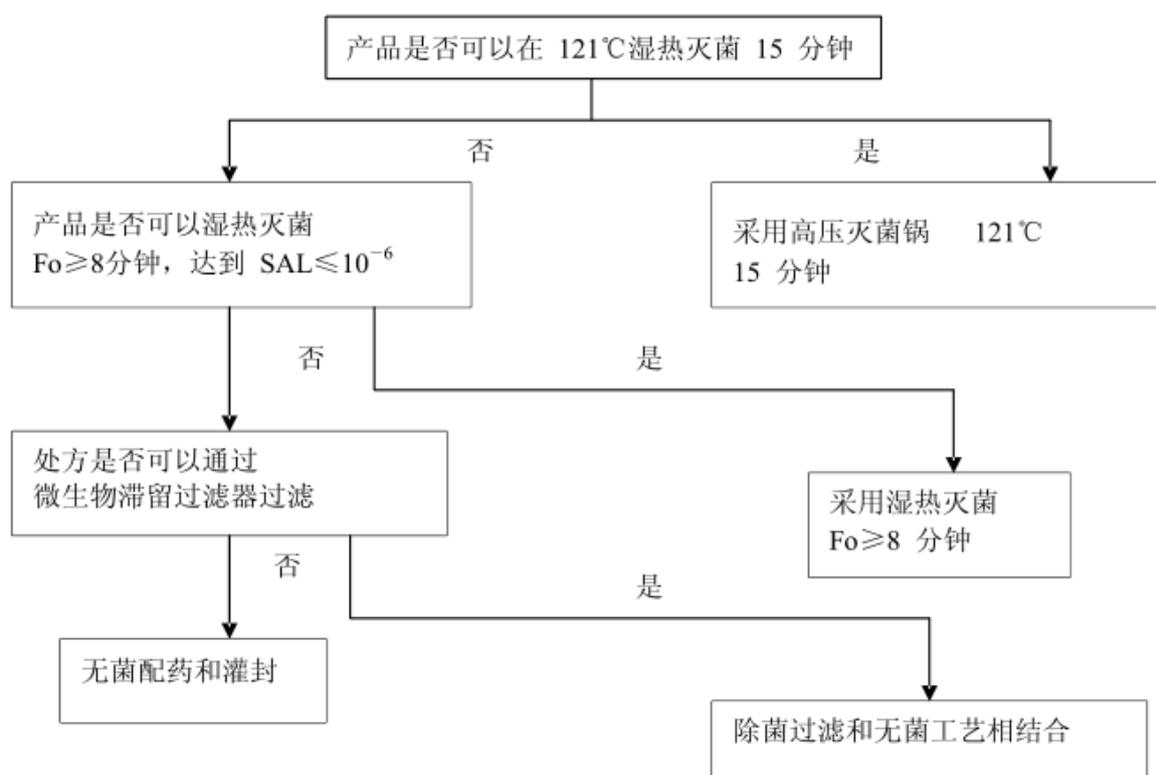
被灭菌产品中，产品的设计及选用的材料，必须能适应灭菌工艺灭菌柜室内的环境变化。

采用蒸汽-湿热灭菌的产品，除非产品为水溶液，经加热后能自身产生饱和蒸汽，应采用适当的包装允许产品内部空气排出并让蒸汽渗入，以使水蒸汽与污染微生物直接接触。

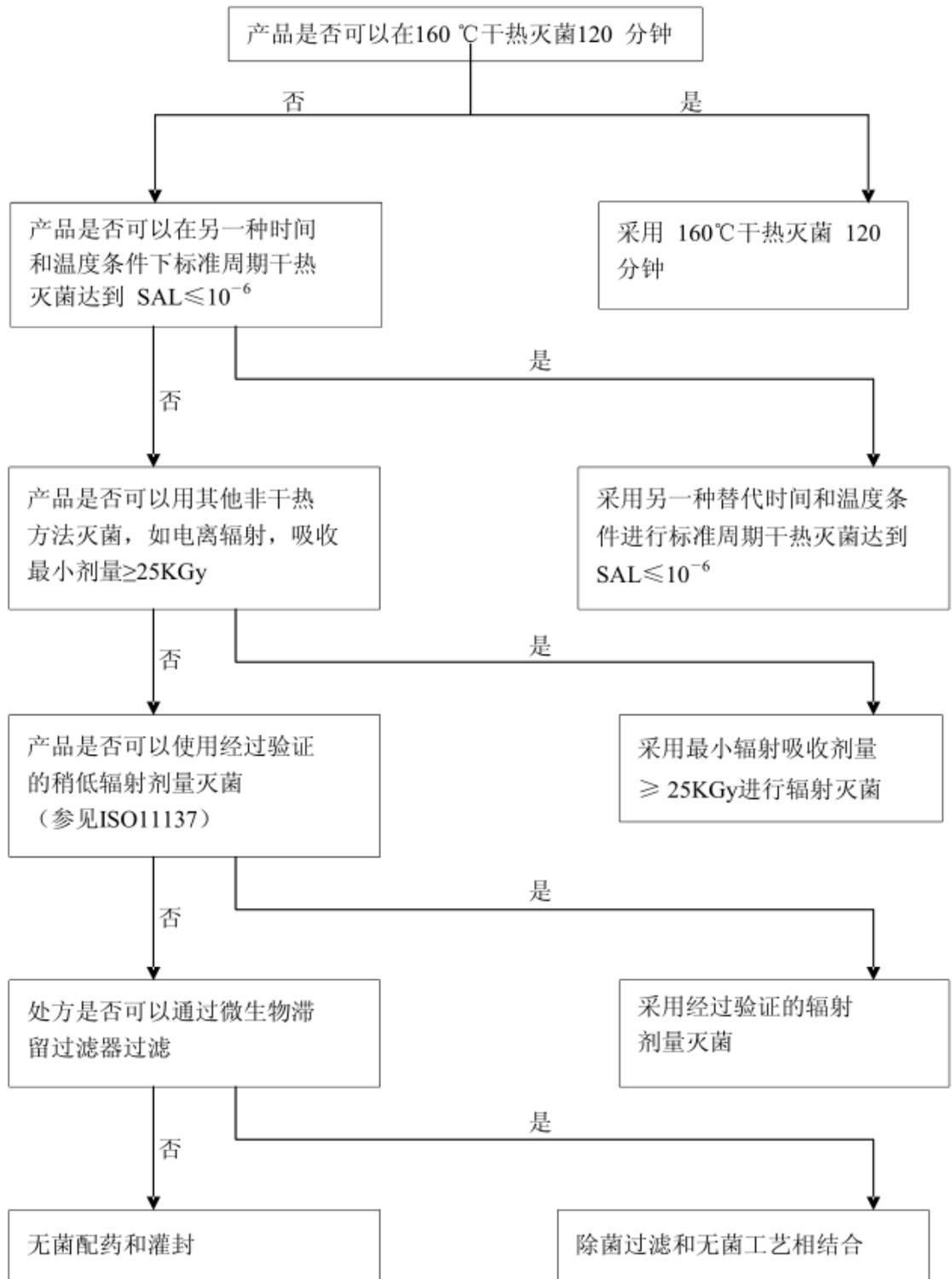
采用蒸汽-湿热灭菌的产品，若为多孔或坚硬物质，则至少必须有一层内包装和一层外包装组成。包装必须允许产品内部空气排出并让蒸汽透入，或可用热力传导达到灭菌条件的产品。同时，内外两层包装在灭菌后应仍然符合规定。对器材或部件进行蒸汽-湿热灭菌时，物品将承受温度、压力甚至抽真空的应力，经过蒸汽-湿热灭菌后，还应考虑对其包装材料作充分干燥处理，以保持其无菌屏障的性能。

以下为蒸汽-湿热灭菌工艺的决策树，这个决策树对被灭菌产品和灭菌工艺的关键因素进行了总结，以便指导灭菌工艺的设计：

溶液剂型产品灭菌方法选择的决策树



非溶液剂型、半固体或干粉产品灭菌方法选择的决策树



使用热不稳定的包装材料不能成为选择无菌工艺的唯一理由。无菌药品的生产企业，首先应根据特定的处方选择最佳的灭菌方法，然后再选择包装材料。

采用过度杀灭法时，应考虑到对产品、包装袋或包装箱产生热力损害的可能性，热力的超量暴露还会增强化学降解。

## **蒸汽灭菌器以及相关辅助设施：公用系统（蒸汽、水、空气等）**

### **对蒸汽灭菌器的安装、验证和维护**

一、必须对选用的蒸汽灭菌器以下内容进行确认：

- 1 蒸汽灭菌器的安装和维护，湿热灭菌的常规控制和确认，以及已灭菌产品的放行，必须经过培训并具有操作经验；
- 2 每个蒸汽灭菌器至少要有铭牌，永久固定并标明：
  - 生产商的名称和地址
  - 序号或其他唯一性编码
  - 灭菌柜室设计压力和最高工作温度
  - 夹套额定压力（若必需）
  - 合格检定标识等
- 3 具备足以保证蒸汽灭菌器操作安全有效的安装指导和操作指南；包括设备耐温和耐压的极限，安全注意事项；修理手册（包括可更换的部件一览表）；灭菌柜室的详细结构和元件图，管道和控制系统的示意图；自控系统的控制元件和源文件等；
- 4 若可能，对蒸汽的纯度和质量作出规定并实施监测；
- 5 蒸汽灭菌器必须配备一套测量装置，以检验灭菌周期内控制仪表所测数值是否在额定的范围内。灭菌程序的控制探头与灭菌温度或压力记录仪的探头必须独立；
- 6 通过足够数量的灭菌周期测试，证实该灭菌工艺具备可重复性；
- 7 在每次灭菌周期测试前后，均必须对温度测量装置（验证设备）进行校准；
- 8 对最大装载，最小装载两者，或者是混合装载均必须进行足够数量的灭菌周期测试，并评估是否符合规定；
- 9 对再次确认，改变工艺，产品或包装变更，装载变更等，必须作出明确规定，其中必须包含需重复确认的内容以及必要性。

二、以下是对蒸汽灭菌器的相关内容的总结，用以指导蒸汽灭菌器的选型、安装和验证：

- 1 对蒸汽灭菌设备的各项控制内容详细规定：
  - 1.1 排水报警；
  - 1.2 空气去除以及控制，或报警；
  - 1.3 自动控制器（腔室内温度、压力或时间等）；
  - 1.4 设备腔室的深度、宽度和高度的确认，以符合被灭菌产品的需要；
  - 1.5 设备本身有足够的热容量，以便有利于灭菌周期的设计和极限挑战周期的确认；有利于研究等效灭菌时间、最小灭菌时间以及双倍最小灭菌时间；
  - 1.6 对蒸汽供应管路有相应的规定，并制订行之有效的检查指南；
  - 1.7 对门的压力试验有相应的规定，并制订行之有效的检查指南；
  - 1.8 各类报警失效的风险分析以及管理；
  - 1.9 参考测点位置的确认；

- 1.10 压力试验（真空度）、泄漏率；
- 1.11 安装偏差以及处理；
- 2 空气过滤器的过滤效率不小于 99.5%（0.3 $\mu$ m）；
- 3 真空度不小于 7Kpa；真空度的显示范围在 0~400Kpa；精度不小于 1.6%；若数字显示，则不能小于 1Kpa；
- 4 安装环境的照度不低于 215lx；
- 5 温度测量点的响应时间不大于 5s；
- 6 温度显示可以是数字的或其他类似物，范围在 50~150 $^{\circ}$ C，精度不小于 1%；温度若数字显示，则不能小于 0.1 $^{\circ}$ C；
- 7 排水口与地漏间应有空气阻断以防止虹吸；
- 8 灭菌时间显示的精度应在 $\pm$ 2.5%(5 分钟以下)和 1%（5 分钟以上含 5 分钟）等。
- 9 温度波动应在 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C~ $\pm$ 1.0 $^{\circ}$ C之内（空载热分布测试，环境温度变化变化尽可能小）；
- 10 压力波动应在 $\pm$ 5Kpa 之内（空载热分布测试）；

### **对蒸汽或过热水等灭菌介质的规定**

有些蒸汽可以被用于湿热灭菌，其中包括工业蒸汽和纯蒸汽，但不局限于此。在一定温度下，不同加热介质（灭菌介质）的热能有很大差别。过热水、饱和蒸汽和蒸汽-空气混合物含有不同的热能。只有饱和蒸汽作为灭菌介质时，蒸汽的温度和压力之间存在对应关系。

工业蒸汽一般不与被灭菌产品直接接触。它用于各种能量转移的目的。对于蒸汽-湿热灭菌法，通常认为工业蒸汽适合于提供灭菌器外壳（灭菌舱室中的蒸汽与外壳的蒸汽不采用同一种蒸汽），也适合于采用过热水灭菌方法时提供热交换器非洁净部位的热水。

纯蒸汽，也叫做洁净蒸汽和高质量蒸汽。纯蒸汽的冷凝液符合中国药典注射用水的要求。纯蒸汽主要通过为特定目的设计的蒸汽发生器产生。

有关蒸汽质量的测试一般是指纯蒸汽的质量测试。包含过热值(Superheat)；蒸汽干燥值 (Dryness value)；不凝气体 (non-condensable gases)；蒸汽质量测试（化学项目，含中国药典注射用水项下的绝大部分内容）等内容。为了提高灭菌介质的保障度，也可以在添加电导率项目的控制指标，或对重金属指标的控制更加严格等。

不凝气体 (non-condensable gases) 是被遗留在蒸汽中的非凝结状态的气体（比如空气、氮气或二氧化碳等），这些气体会将纯蒸汽变为蒸汽和气体的混合物。

蒸汽的干燥值 (Dryness value) 是蒸汽中液相水量的测量值。这个液相水由蒸汽携带，干燥值小于 1 的蒸汽所含的能量会小于纯净的饱和蒸汽。蒸汽的干燥值与它具有的潜热有关，具有饱和压力下相当于潜热 50%能量的蒸汽，干燥值为 0.5，表示混合物中水和蒸汽的比例为 50：50。干燥值通过测量得到。

蒸汽质量的指标是：蒸汽的干燥值 (Dryness value) 不低于 0.95；不凝气体 (non-condensable gases) 不大于 3.5%(V/V)；蒸汽压力波动不超过 10%；且其降低比例不大于 2：1。

## 蒸汽灭菌器中的水和气体

蒸汽灭菌器中的水和气体均要求无菌、包括喷淋水，防止二次污染。真空系统的水质也应控制，且不低于 15℃；硬度值不大于 0.2nmol/L。

压缩空气和空气都应经过空气过滤器送入腔室，空气过滤器的过滤效率不小于 99.5%（0.3μm）；油分应低于 0.5mg/L。

## 用于验证的测试仪器

具备进行热均匀性试验的验证装置并符合规定要求：测量仪器的精度大于被测灭菌设备的允差范围（一般小于 0.5℃）；

# 五、灭菌工艺的开发和验证

## 1，两种灭菌方法

蒸汽-湿热灭菌工艺开发和应用，可采用两种方法：过度杀灭法（the overkill method）和生物负载法（the bioburden method）。生物负载法也可称为存活概率法。

### 1.1 过度杀灭法

工业上蒸汽灭菌周期的设定和应用，一般使用过度杀灭法（the overkill method）。使用过度杀灭法的目标是确保达到一定程度的无菌保证，而不管装载物的实际负载生物的数量多少和抗热性如何。假定生物负载的数量和耐热值设为如下水平：

$$N_0 = 10^6$$
$$D_{121} = 1 \text{ 分钟}$$
$$Z = 10^\circ\text{C}$$

为了达到无菌保证水平 SAL 小于  $10^{-6}$ ， $N_F = 10^{-6}$ ，利用上面这些数值，可以计算出为达到致死率所需的  $F_{PHY}$  和  $F_{BIO}$  如下：

$$F_0 = D_{121} \times (\text{Log}N_0 - \text{Log} N_F) = 12 \text{ 分钟}$$

很少发现自然生成的微生物拥有超过 0.5 分钟的  $D_{121}$  值。过度杀灭法假设的生物负载数量和抵抗力都要高于实际。大多数微生物的耐热性都要比这低，因此能够提供很高程度的无菌保证。

即便采用蒸汽-湿热灭菌工艺为过度杀灭法（the overkill method），仍然需要对被灭菌产品的初始菌进行周期监测，并定期采用生物指示剂测试。

### 1.2 生物负载法

通常来说不耐热产品或物品的灭菌就不能使用过度杀灭法了。这就需要我们所建立的灭菌周期必须能恰当地杀灭微生物负载，但是不能导致不可接受的产品分解。这样的灭菌周期的建

立就有赖于研究产品上的微生物数量和耐热能力。一旦微生物负载的数量和耐热能力得以明确，就可以设计出一个能达到 SAL 小于  $10^{-6}$  的灭菌周期。

按 CGMP 规范生产的产品实际生物负载数量应该是很低的，每个包装约在 1~100CFU，对产品给予 80~100℃ 下 10~15 分钟热休克，可以杀灭耐热值低的微生物。例如：

产品的生物负载测试中，测得：

$$N_0 = 10^2$$

$$D_{121} = 1 \text{ 分钟}$$

$$Z = 10^\circ\text{C}$$

则达到无菌保证水平 SAL 小于  $10^{-6}$ ， $N_F = 10^{-6}$ ，利用上面这些数值，可以计算出为达到致死率所需的  $F_{PHY}$  和  $F_{BIO}$  如下：

$$F_0 = D_{121} \times (\text{Log}N_0 - \text{Log} N_F) = 8 \text{ 分钟}$$

生物负载法需有实测产品活菌计数和耐热性筛选程序。必须取得足够的有关生物负载数据，亦建立历史资料。对生物负载筛选次数的要求，取决于历史资料的质量和变化情况，被灭菌产品的种类、生产工艺和灭菌工艺的类型等等。若生产环境发生了变化，应考虑对生物负载进行补充监测。

对生物负载耐热性的测定，可将含生物负载产品样本在推荐灭菌工艺下作分级递增暴露时间处理，然后进行无菌检查试验，以测定在不同的暴露时间内存活的菌量，或存在的阳性样本比例。作为一种替代方法，生物负载微生物的耐热性可通过分离和繁殖，随后接种在产品上或适当载体上进行测定。不过，要注意繁殖会改变生物负载的抗性。此外，还应对常规生物负载的微生物耐热性进行测定。

就生物负载而论，具有湿热高度耐热性的微生物菌株有：生孢梭菌（*Clostridium sporogenes*），凝结芽孢杆菌（*Bacillus coagulans*），枯草芽孢杆菌和嗜热芽孢杆菌等。

以生物负载法为依据的灭菌工艺，需经常进行微生物筛选，以测定与产品有关的生物负载数量和种类。在常规生产中，应从每一种生产设备中抽取具有代表性的产品样本，并设计生物负载监测程序，对产品部件及生产中，包括环境和生产过程中，任何可明显地影响生物负载地变化进行评定。

## 2，用于注射剂生产的辅助物料的灭菌工艺

用于注射剂生产的部分辅助物料在生产过程中与药品直接接触，因此同样需要灭菌。它们包括：过滤器、胶塞、胶管、服装、不锈钢器皿、填充机械部件、清洁用品等等。一般通过与饱和蒸汽直接接触而实现灭活，湿热蒸汽的能量通过传导或对流作用传递热量。常用方法是建立能够提供相同的最小灭菌保证水平的标准周期，再加上一定的安全系数，不管装载物的内容是什么。

对于这类物品，获得可重复和可预测无菌保证的最大障碍是物品中潜在的空气，所以适合的

灭菌过程是先采用预真空过程，然后饱和蒸汽灭菌的方法。预真空过程的效果明显优于重力置换过程。

对于预真空灭菌程序，灭菌过程开始之前对装载物的处理是很重要的。如果每次的真空度为 0.1 个大气压，那么每个脉冲将使灭菌器内的空气减少 90% 或者 1 个对数单位。可以增加为三个真空脉冲（蒸汽注入高于大气压，以避免空气进入灭菌腔室），使装载物处于正常状态。通过这个方法，空气去除的效率会提高，平衡时间会缩短。

典型的重力置换程序建立在如下的理论上：腔室中的冷空气重于进入的蒸汽并且将沉降到腔室的底部。蒸汽进入腔室的时候，空气和冷凝液一起从腔室底部的蒸汽疏水阀排出。去除空气过程的成功取决于对蒸汽疏水阀的准确操作和合适的蒸汽分布。蒸汽一般通过导流板或多孔管注入灭菌器腔室，如果蒸汽增加得过于迅速或者没有合理分布，装载物的顶部附近可能会产生气穴，如果蒸汽增加得过于缓慢，空气可能会被加热而混入蒸汽中，从而使空气去除更加困难。重力置换去除空气的效率低于其他方法，不推荐用于空气去除困难的物品。

对于多孔/坚硬物品的灭菌，需要确定以下操作参数（但不仅限于此）：

| 灭菌程序/阶段 | 控制参数                  | 对参数的说明                                     |
|---------|-----------------------|--|
| 灭菌程序全部  | 外壳温度/压力               | 外壳温度不能超过或者明显低于灭菌器腔室的灭菌温度。要控制温度避免过度加热或过度冷却。 |
|         | 监控探头/记录探头             | 必须独立，并带有合适尺寸的记录纸以便记录灭菌程序全部的温度/压力变化值        |
| 加热阶段    | 真空/脉冲的次数、范围和持续时间（若使用） | 用于多孔/坚硬物品灭菌时的空气去除                          |
|         | 正压力脉冲的次数、范围和持续时间（若使用） | 用于在灭菌程序开始之前控制装载物                           |
|         | 腔室加热                  | 对于饱和蒸汽的灭菌方法，可以根据温度和压力的变化设置报警点              |
| 灭菌阶段    | 灭菌时间                  | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数                           |
|         | 灭菌阶段的温度               | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数                           |

|      |                     |   |
|------|---------------------|---|
|      | 灭菌阶段的腔室温度波动         | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数                              |
|      | F <sub>0</sub> 值的累积 | 对于灭菌器自带的测量探头，最小 F <sub>0</sub> 值的记录有利于灭菌程序的评价 |
| 冷却阶段 | 干燥时间                | 可以选择加热、真空等手段来干燥装载物                            |
|      | 真空解除速率              | 若需要，可以用来保护包装或过滤器的完整性                          |

若最后采用喷淋水降温，则必须监控喷淋水的质量。但是多孔/坚硬物质不适合采用喷淋水降温，一般采用抽真空或夹套降温。比如过滤器，胶塞，胶管，服装，不锈钢器皿，填充机械配件，清洁用品等等。

对于灭菌装载方式，需要注意以下几点：

- 装载物的类型和结构要加以确认并记录在案；
- 装载物不能接触到灭菌舱室内壁；
- 金属箱表面与底座之间的接触应减小到最低程度，通常使用有孔的支架，必要时也可以用可调节的支架；
- 为了便于空气去除，冷凝水排出和蒸汽穿透，要明确地确定装载物地方位并记录在案；
- 质量大的装载物应放置在灭菌器中较低的架子上，以尽量减少被冷凝水弄湿；
- 控制灭菌器中物品的数量，如果装载物的大小能够改变，则需要确定最小和最大的装载物，确认中间装载物的合理插入法应包括最低负载中的最难灭菌物品；
- 如果确认研究表明物品的位置不影响灭菌效果，那么装载的形式可能是可变的；
- 装载记录可以作为操作人员的参考。

### 3. 用于注射剂的灭菌工艺

充满液体的装载物通常是同类型的，尺寸相同，容量相同，并来自于同一批产品。注射剂（液体）的灭菌工艺也根据产品的技术要求设计灭菌周期。如果产品不是水溶液（如一些油性产品），需要特别考虑是否适合采用蒸汽-湿热灭菌法。

注射剂的灭菌是通过能量由加热介质传递给包装内部水溶液的过程来实现的。对于悬浮液和乳浊液的灭菌，装载物需要保持运动状态（比如翻转，选装或一定角度的摇摆）来促进内部的热循环。可以采用过热水过程或空气-蒸汽混合灭菌程序来实现。

对于蒸汽 - 空气混合物 (SAM) 程序，主要用风扇使蒸汽 - 空气混合物循环。蒸汽 - 空气混合物程序可以使用多种方法来冷却灭菌后的产品。最常用的方法是通过向灭菌器外壳或线圈上加冷水来使再循环空气冷却，还有一些使用蒸汽 - 空气混合物程序的灭菌器通过在产品上喷洒冷水使其降温。

用容器中充满的可循环的过热水来灭菌，对一些产品来说是很有效的方法。再循环过热水的方法有很多种，最常用的是通过泵来实现水从灭菌器底部（低于装载物的区域）到装载物区域上方的喷雾器喷口的不断循环。

循环水的加热和冷却可以直接通过蒸汽的喷射和冷水，也可以间接通过热交换器来实现。使用间接加热和冷却法（通过一个干净的热交换器）时，几乎任何形式的蒸汽或水都可以在热交换器非洁净的部位使用。间接冷却是首选办法，因为直接接触密封容器的冷却水可以和产品仪器被灭菌。

另外一种循环过热水方法是将产品完全浸入水中。

对于几乎所有的溶剂型产品，产品的顶部空间存在气体（空气、氮气或其他气体）。液体被加热时，顶部空间中的气体膨胀，容器中的压力增大。

对于大多数液体装载物，如预充式过滤器、一些玻璃瓶、塑料袋和半刚性容器，需要增大灭菌器腔室的压力从而维持容器的形状和完整性，容器内部压力和灭菌器腔室压力之间的差异减少到最低程度。为了补偿内部容器压力所需的空气超压，不同的产品类型（如玻璃瓶和塑料袋）压力明显不同。空气超压过程中常用无油压缩空气，空气质量很重要，比如微生物等。

所有这些循环过热水方法都使用在灭菌过程中可以控制的空气超压。循环水方法与其他的蒸汽灭菌法相比，最大的优点之一是加热和冷却的速率容易控制，而且如果参数合适，不会被产品和其他设施的参数变化所影响。

对于溶剂型产品的灭菌，需要确定以下操作参数（但不仅限于此）：

| 灭菌程序/阶段 | 控制参数 | 对参数的说明 |
|---------|------|--------|
|---------|------|--------|

|        |                           |  |
|--------|---------------------------|--|
| 灭菌程序全部 | 外壳温度/压力                   | 在过热水灭菌程序中，外壳温度/压力的控制不是决定性的因素。如果需要控制，则外壳的温度不应高于灭菌器腔室的温度                       |
|        | 蒸汽—空气混合物程序 (SAM) 中风扇的转速   | 风扇最好包含故障报警装置   |
|        | 搅拌/旋转速率                   | 最好包含低速限度故障报警装置   |
|        | 过热水再循环流动速率                | 泵应包含低限启动故障报警装置   |
|        | 监控探头/记录探头                 | 必须独立，并带有合适尺寸的记录纸以便记录灭菌程序全部的温度/压力变化值  |
| 加热阶段   | 腔室的水位(过热水法)               | 应包含最小水位的报警装置   |
|        | 加热时间                      | 对于饱和蒸汽的灭菌方法，可以根据温度和压力的变化设置报警点；<br>对于 SAM，可以监控蒸汽—空气的比例；<br>对于过热水法，可以监控加热时间的波动 |
|        | 腔室加热速率 (°C/分)             | SAM 和过热水法均为关键参数  |
|        | 压力增加速率                    | SAM 和过热水法均为关键参数  |
| 灭菌阶段   | 灭菌时间                      | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数   |
|        | 灭菌阶段的温度                   | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数   |
|        | 灭菌阶段的腔室温度波动               | 对每个灭菌程序都是重要的控制参数   |
|        | 灭菌阶段的腔室压力波动               | 对于饱和蒸汽灭菌法是重要的控制参数；<br>对于空气超压的循环也是重要的控制参数                                     |
|        | 灭菌阶段间接加热介质的温度             | 若使用间接加热，则为重要的控制参数  |
|        | F <sub>0</sub> 值的累积       | 对于灭菌器自带的测量探头，最小 F <sub>0</sub> 值的记录有利于灭菌程序的评价                                |
| 冷却阶段   | F <sub>0</sub> 值的累积 (最大值) | 对于不小于 3 个灭菌器自带的测量探头，最大 F <sub>0</sub> 值的记录有利于灭菌程序的评价                         |
|        | 温度下降速率 (°C/分)             | 对于 SAM 和过热水方法是重要的控制参数  |
|        | 压力下降速率                    | 若需要，可以保护包装的完整性   |
|        | 装载物的冷却时间                  | 可以通过冷却时间的控制获得理想的产品温度   |

产品最终灭菌最重要的是建立灭菌工艺,以保证能够为装载物中温度最低的冷点产品提供足够的致死率,同时确认装载物中温度最高的产品能够保持其产品性质,因此,必须做到以下几点:

- 在验证和常规灭菌过程中,装载物要在同一位置;
- 装载物的热输入是统一的;
- 产品的生物负载符合灭菌能力;
- 足够的空气超压使得产品的破损和变形减小到最低程度;
- 允许装载物的有效冷却,以保证产品的质量;
- 产品具有热稳定性
- 灭菌器舱室内的托盘和支架应根据产品和加热介质(饱和蒸汽、蒸汽-空气混合物或过热水)的类型来设计;

#### 4. 灭菌验证的方法

灭菌过程的验证和常规控制的相关内容包括灭菌设备的确认、灭菌工艺的验证、包装适用性、装载试验、空气过滤器的检查、蒸汽的质量及管理、真空检查和再验证周期等等内容。

##### 4.1 在蒸汽灭菌验证进行之前,需要确认以下内容:

蒸汽灭菌器制造商的质量保证、  
蒸汽灭菌器的检查、安装和性能确认、  
安装于蒸汽灭菌器的空气过滤器的泄漏试验、  
空气流速或流型试验(若必需)、  
压力或真空度测试、  
蒸汽质量测试(若必需)、  
生物指示剂(化学指示剂)的挑战性试验、  
不同装载的验证、  
升温时间的控制(若必需)、  
保温时间内的温度波动范围、  
对灭菌器进行热分布/热穿透测试仪器的校准,  
IQ/OQ/PQ 的方案  
具备证实能够进行 IQ、OQ 和 PQ 的所有内容并能对偏差进行处理及纠正的能力。

##### 4.2 一般来说:验证(IQ/OQ/PQ)必须包含:

###### 4.2.1 被测灭菌设备和公用系统的测试必须包含:

- 1.1 灭菌设备供应商的评价;
- 1.2 灭菌设备的容积、真空度、压力以及泄漏率;
- 1.3 用什么作为灭菌介质(如蒸汽、高压空气、过热水等)并能证实有效;
- 1.4 灭菌设备如有夹层、夹层与气室之间的压力与温度保持在什么水平上是安全的;
- 1.5 使用何种类型的过滤器?多长时间进行挑战性试验?
- 1.6 使用何种类型的监测和控制传感器?如何校正?是否符合相关规定?
- 1.7 如灭菌设备中装有蒸汽分流器,则必须消除系统运行安全的风险;
- 1.8 时间、温度、压力、压力消减速率的控制(若必需);
- 1.9 空气质量、水质量的控制以及报警(若必需);

1.10 以上所有情况的变化是否评价再验证的必要；

4.2.2 对灭菌工艺的验证必须包含：

2.1 空载热分布研究

2.2 热穿透研究

每种装载容器的每种装载方式；

每种方式的运行次数；

每种方式的冷点是否确定；

2.3 升温、降温速度对生产工艺、产品的影响；

2.4 喷淋冷却速度对被灭菌产品的影响；

2.5 冷却用水是否能有效地控制微生物；

2.6 温度测量系统是否提供每一个测点的打印数据；

2.7 温度测量系统是否每次运行都进行前后校正；

2.8 温度测量系统的校正是否符合相关规定；

2.9 生物指示剂的使用：

类型；

来源；

密度和 D 值；

是否采用生物负载法？是否测试被灭菌产品的初始菌？

如发生意外（阳性），如何处理；

2.10 若出现热穿透偏差如何处理；

2.11 若必需，提供污染菌（微生物负载）的特性及鉴别；微生物负载的报警及采取措施的限度；生物指示剂的鉴别、耐热性及稳定性；污染菌与生物指示剂耐热性的比较；微生物挑战性试验，用以证明在最短的灭菌周期内在最差条件下（如产品处在生物指示剂最难杀灭的位置或它属于最难灭菌的产品或二者兼备的情况）；

2.12 对过度杀灭的风险分析及管理；

2.13 灭菌后的干燥程序对灭菌效果的影响；

2.14 研究产品耐受性变更导致的灭菌工艺变化；

2.15 总体评价并指导最佳灭菌效果的装载量；

2.16 验证及其相关项目的培训

4.2.3 对于灭菌工艺的验证，应符合以下规定：

1，保温时间内温度波动应在 $\pm 0.5^{\circ}\text{C} \sim \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ 之内（环境温度变化变化应尽可能小）；

2，保温时间内压力波动应在 $\pm 5\text{Kpa}$ 之内（若必需）；

3，灭菌工艺验证包含最小装载、饱和装载和典型装载三种；或者采用最大装载，最小装载和混合装载的兼容性研究；

4，极限最低温度与最大值相差不大于 3K；

5，等效灭菌时间的偏差不大于 15s（对最大的灭菌设备不大于 30s）；

6，空气过滤器的流速应不大于 0.13Kpa/min（若必需）；

7，空气移除速度的检查（若必需，适合多孔/坚硬物质）；

8，生物指示剂的布置；

9，若必需，则需测被灭菌物品的初始菌（微生物负载）；

10，以冷点为控制温度；即确认所有测点均达到灭菌温度后才计算标准灭菌时间。

## 5, 灭菌验证形成的相关文件

### 5. 1 相关文件要点

以下是对蒸汽灭菌器或蒸汽-湿热灭菌工艺的相关验证文件的分类, 可以根据实际情况作出筛选, 但必须评估相关内容是否完整:

灭菌器制造商及其设备信息;

灭菌器的安装报告;

首次灭菌的情况、所有操作及控制文件, 包括仪表、阀门、报警装置以及相关设施的校验等;

产品的安全耐受性研究报告

真空度以及压力保障措施的验证

泄漏率测试报告

蒸汽、水、压缩空气等辅助系统的质量测试报告

包含冷点、装载分布、热分布、热穿透等项目研究的 IQ、OQ、PQ 方案及报告

对验证结果的总结和风险分析, 提出装载指导报告

完整的操作记录 (也可以是表格)

维护保养程序以及记录, 包含预防性维护、条件维护等内容

任何变更、任何故障的处理报告

培训记录以及效果评价报告

再验证周期的规定

其他

### 5. 2 验证文件要点

灭菌参数与被灭菌物品特性的确认

真空度 (泄漏率)

蒸汽灭菌的初始菌控制 (灭菌前物品的生物负荷的数量)

蒸汽灭菌中对于水、空气过滤器等的要求

产品的安全耐受值

对过度杀灭的限制

挑战试验

再验证周期

新的灭菌工艺的开发

验证实施步骤

偏差处理、风险分析以及验证报告

其他

## 附录一 几种灭菌程序介绍

### 1 饱和蒸汽 - 重力置换

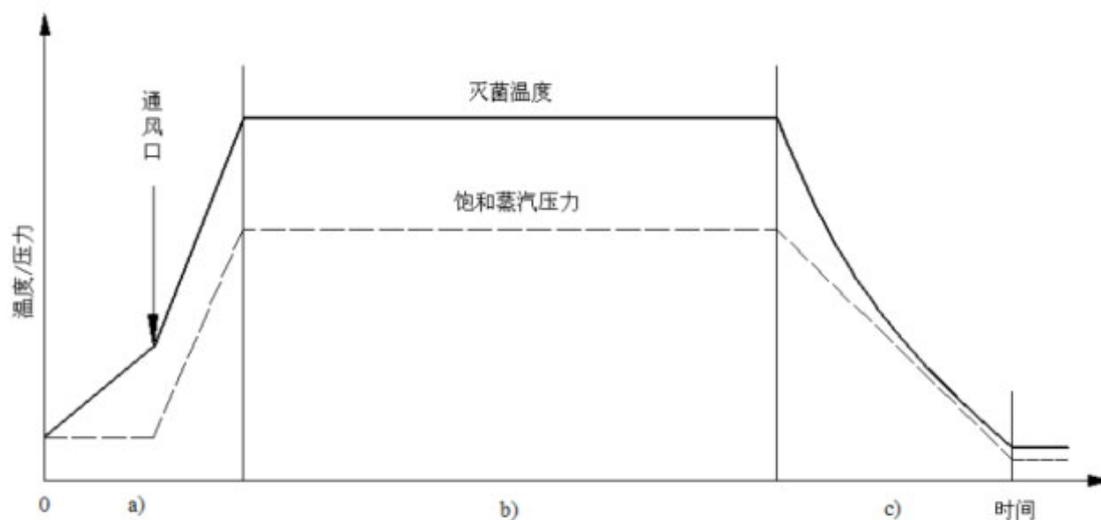
本灭菌工艺适用于可耐受饱和蒸汽的各类产品。但对排除纤维及空隙中的空气尚不能肯定完全去除，因此主要推荐用于表面接触式灭菌。本灭菌工艺主要分为三个阶段：

加热阶段：打开排气口，饱和蒸汽通入灭菌器腔室，直至达到规定的温度，随后关闭排气口，饱和蒸汽继续通入灭菌器腔室（或在腔室内发生），直至达到规定的灭菌温度以及相应的饱和蒸汽压；

灭菌阶段：通过饱和蒸汽在规定的时间内维持灭菌器腔室内的温度；

冷却阶段：本阶段可根据产品的类型来选择冷却方式。为避免降温造成的快速减压，需向灭菌器腔室内通入空气，然后恢复至正常大气压状态。当对密闭容器中的药品进行冷却时，通入灭菌器腔室的压缩空气需过滤，当灭菌器腔室内恢复常压时，密闭容器达到安全温度时，冷却结束。

下图为灭菌器腔室温度/压力与时间的变化曲线：



### 2 饱和蒸汽 - 预真空程序

本灭菌工艺适用于多孔/坚硬物品的灭菌。本本灭菌工艺主要分为五个阶段：

空气去除阶段：去除灭菌器腔室内和待灭菌物品中的空气，可采用一次高度真空或多次脉动真空，也可采用脉动真空与蒸汽的组合；

充蒸汽阶段：饱和蒸汽通入灭菌器腔室，直至达到灭菌所需要的温度和压力；

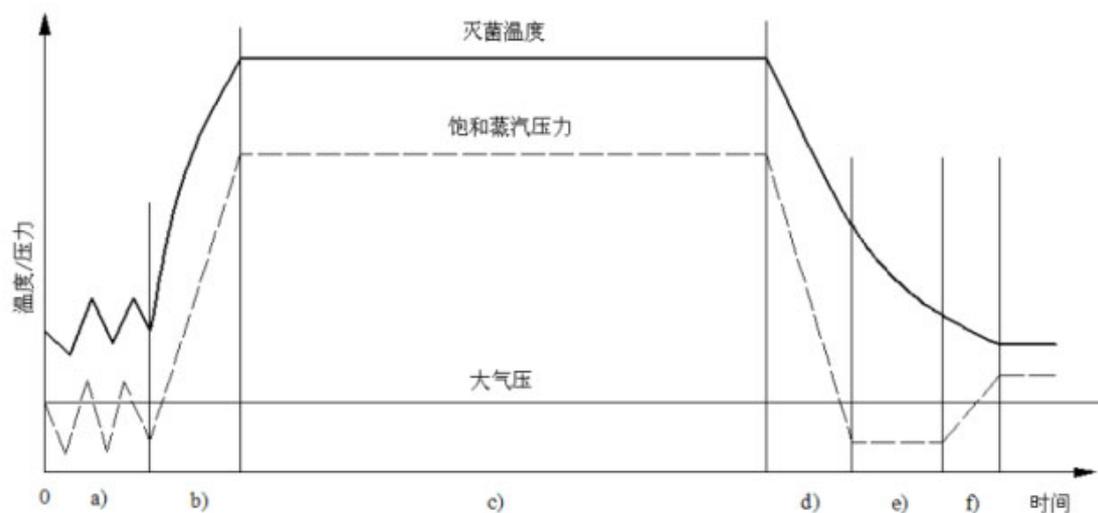
灭菌阶段：通过饱和蒸汽在规定的时间内维持灭菌器腔室内的温度；

抽蒸汽阶段：从灭菌器腔室内抽出蒸汽，并使真空度降至预定水平；

干燥阶段：对需干燥的物品，应使夹套中的温度和灭菌器腔室的真空维持一段预定的时间；

真空解除阶段：向灭菌器腔室内通入过滤的空气，直到恢复至正常大气压状态。

下图为灭菌器腔室温度/压力与时间的变化曲线：



### 3 蒸汽 - 空气混合物程序 (SAM)

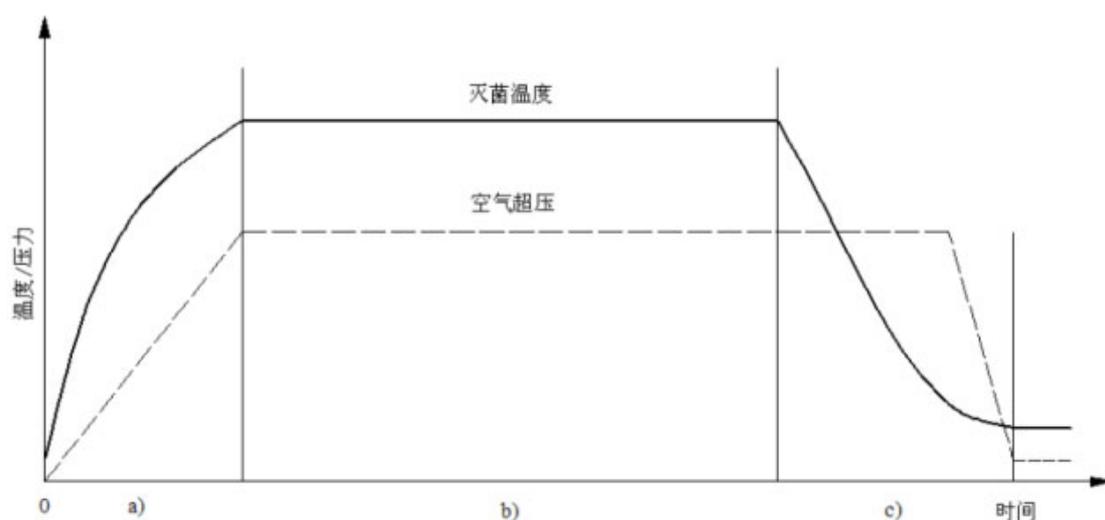
本灭菌工艺分为三个阶段：

加热阶段：蒸汽进入灭菌器腔室，直至达到规定的灭菌温度。产品在此阶段需要超压，当留存空气分压不足时，应输入压缩空气。正常情况下，需要利用循环方式保持均匀的灭菌环境；

灭菌阶段：通过饱和蒸汽在规定的时间内维持灭菌器腔室内的温度；若需超压，应仍使用压缩空气；

冷却阶段：为完成产品冷却，可使用冷却的压缩空气或进行喷水。为保持产品的形态，应仍使用压缩空气维持所需的灭菌压力，以避免快速减压对产品造成的损害。压力维持到产品充分冷却，然后通风恢复至常压。

下图为灭菌器腔室温度/压力与时间的变化曲线：



#### 4 过热水程序

本灭菌工艺分为四个阶段：

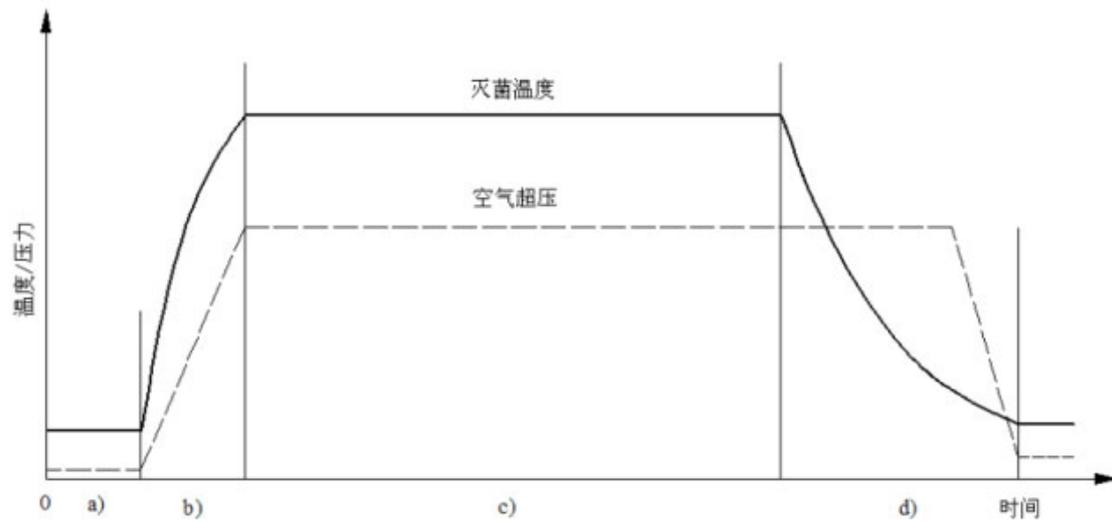
注水阶段：在灭菌器腔室内输入一定量的水（或由蒸汽产生的冷凝水），使产品整个浸没在水中；

加热阶段：将水通过热交换器加热，并将压缩空气通入灭菌器腔室；

灭菌阶段：启动循环系统，使水在规定的时间内维持灭菌器腔室内的温度；

冷却阶段：通过压缩空气维持灭菌器腔室内的压力，使循环水按预定速度降温，使产品冷却，当产品降至安全温度时，灭菌器腔室减压。

下图为灭菌器腔室温度/压力与时间的变化曲线：



## 附录二 水浴式灭菌器的验证方案示例

灭菌器是大容量注射剂生产中的关键设备。常用的灭菌器之一有脉动真空灭菌器，通常用于过滤器、胶塞、灌装机可拆卸部件、灌装区用的手套、口罩、洁净工作服等物品的灭菌，这种灭菌器一般采用饱和蒸汽作为灭菌介质，并有防止二次污染的灭菌冷却系统（如空气过滤器等）；另一类是用以灭菌产品的灭菌器如水浴喷淋式灭菌器或过热水灭菌器，这种灭菌器采用纯化水或注射用水作为加热、灭菌和冷却介质，可以有效防止产品灭菌后的二次污染。它以过热水在灭菌器腔室内循环对产品不断地进行均匀的喷淋来达到灭菌目的，同时，借助于洁净压缩空气的作用保持腔室内处于适当地压力状态而防止水的汽化，在保证被灭菌产品受热均匀性的同时，又通过自动控制系统确保产品受热时内外压力的基本平衡，减少产品在灭菌过程中破损。

常规的验证工作有以下几个步骤；

A：设立验证的组织机构（验证小组等）；

B：制定验证计划，确定所需的仪器设备、系统、过程和进度时间表；

C：制定验证方案，必须确定为达到预期目的的具有可操作性的验证方法；包括验证目的、适用范围、系统或设备、验证方法、可接受标准、实施步骤等

D：按照验证方案实施；

E：收集验证数据出具验证报告，包括验证结果、偏差处理、验证评价和建议，再验证周期等。

验证的组织机构（验证小组）开始工作以后，首先要确定灭菌柜的方案起草、会签人员，然后方案批准后实施。

灭菌器的验证包含预确认、安装确认、运行确认和性能确认（产品灭菌工艺的确认）等几个阶段。

预确认方案具备以下内容：

首先应根据产品的工艺来考虑灭菌器的选型，主要是装量的大小、灭菌温度与时间的可控制性、灭菌程序的可选择性、灭菌时腔室内温度的一致性、升温与降温速率的稳定性、控制及记录系统的可靠性等。

安装/运行确认具备以下内容：

是否符合设备本身的验收标准、安全标准以及国家相关法规（包含压力容器）的规定；电源、真空、压缩空气，冷却水等公用系统的验收和与灭菌器的配合性试验是否通过；各种附件、备件、可清洗件是否完整以及记录；辅助设备（如纯蒸汽发生器、空气过滤器等）的性能检查等；仪器仪表的校验；设备的维护保养手册/培训手册/操作手册是否完备；监控探头/记录探头/报警装置的验收等。

性能确认（产品灭菌工艺的确认）具备以下内容：

见本文 4.2.2。

验证方案包含以下内容，但不仅限于此：

1, 引言：包含概述和验证目的、验证依据、接受标准、验证小组人员及其职责等。

概述中对待验证灭菌器的选型。功能以及是否符合灭菌工艺参数进行描述；

验证目的则陈述验证要达到的几项指标，也可以包括挑战试验的内容。例如：

- 检查并确认该设备所用材质、设计、制造符合 GMP 要求
- 检查改设备的文件资料齐全且符合 GMP 要求
- 检查并确认设备的安装符合要求，公用工程系统配套齐全且符合设计要求
- 确认该设备的各种仪器、一般经过校正且合格
- 确认该设备的各种控制功率符合设计仪器
- 确认该设备在稳定的操作范围内能稳定的运行且能达到设计标准
- 确认该设备的灭菌能力达到工艺要求
- 为设备维修、改造和再验证提供数据资料

2, 安装确认：

## 2.1 文件的确认

| 文件名称        | 存放地点 | 持有人 |
|-------------|------|-----|
| 操作手册        |      |     |
| 安装计划        |      |     |
| 维修指南        |      |     |
| 备件清单        |      |     |
| 压力容器检验      |      |     |
| 操作 SOP      |      |     |
| 培训记录        |      |     |
| 安装图         |      |     |
| 辅助设施清单及性能报告 |      |     |

## 2.2 主要部件检查 ( 最好填写详细信息、型号等 )

| 部件名称  | 设计指标 | 是否有校验证证书及编号 | 结论 |
|-------|------|-------------|----|
| 腔体    |      |             |    |
| 水喷淋设施 |      |             |    |
| 热交换器  |      |             |    |
| 循环泵   |      |             |    |
| 空气过滤器 |      |             |    |
| 灭菌车   |      |             |    |
| 监控探头  |      |             |    |
| 记录探头  |      |             |    |
| 其他    |      |             |    |

## 2.3 安全系统检查 ( 最好填写详细信息、型号等 )

| 部件名称  | 设计指标 | 是否有校验证证书及编号 | 结论 |
|-------|------|-------------|----|
| 腔体安全阀 |      |             |    |

|          |  |  |  |
|----------|--|--|--|
| 门封条      |  |  |  |
| 门封压力控制系统 |  |  |  |
| 压缩空气连锁   |  |  |  |
| 腔室压力开关   |  |  |  |
| 报警系统     |  |  |  |
| 温度开关     |  |  |  |
| 紧急制动开关   |  |  |  |
| 水位控制开关   |  |  |  |
| 其他       |  |  |  |

#### 2.4 仪表的检查与校验 ( 最好填写详细信息、型号等 )

| 部件名称             | 生产厂家 | 是否有校验证证书及编号 | 结论 |
|------------------|------|-------------|----|
| 温度记录仪            |      |             |    |
| 监控/记录温度或<br>压力探头 |      |             |    |
| 真空开关             |      |             |    |
| 压力表              |      |             |    |
| 温度表              |      |             |    |
| 其他               |      |             |    |

#### 2.5 公用系统的连接检查 ( 最好填写详细信息、型号等 )

| 名称            | 设计指标 | 安装情况 | 结论 |
|---------------|------|------|----|
| 电源电压          |      |      |    |
| 压缩空气          |      |      |    |
| 水 ( 接触产品 )    |      |      |    |
| 蒸汽            |      |      |    |
| 冷却水 ( 不接触产品 ) |      |      |    |
| 管道材料/连接       |      |      |    |
| 蒸汽过滤器         |      |      |    |

|        |  |  |  |
|--------|--|--|--|
| 冷却水过滤器 |  |  |  |
| 真空系统   |  |  |  |
| 其他     |  |  |  |

## 2.6 控制系统检查 ( 最好填写详细信息、型号等 )

| 部件名称    | 型号或系列号 | 设计指标 | 结论 |
|---------|--------|------|----|
| 模拟输入    |        |      |    |
| 模拟输出    |        |      |    |
| 数字输入/输出 |        |      |    |
| PLC 模块  |        |      |    |
| 通信卡     |        |      |    |
| 打印机     |        |      |    |
| 软件      |        |      |    |
| 记录纸     |        |      |    |
| 其他      |        |      |    |

## 3, 运行确认 ( 功能测试 )

包含真空度测试、腔室泄漏测试以及对规定的灭菌程序进行测试，确认符合规定。

## 4, 性能确认 ( 产品灭菌工艺的认可 )

包含验证依据、接受标准、验证小组人员及其职责等。

### 4.1 热分布试验

空载：必须包含测点位置图和接受标准、温度记录等，通过数据找到冷点。

装载：与上相同，但包含最小装载、典型装载和最大装载三种，每种重复三次。

计算  $F_0$  值，结果分析与评价。

### 4.2 热穿透试验 ( 与生物指示剂同时进行 )

装载：必须包含测点位置图和接受标准、温度记录等，通过数据找到冷点。但宜包含最小装载、典型装载和最大装载三种，每种重复三次。

计算  $F_0$  值，结果分析与评价。

#### 4.3 偏差分析

**偏差报告表**

|                |         |
|----------------|---------|
| 测试中出现偏差的位置:    | 偏差号:    |
| 偏差描述:          |         |
| 发现偏差人/日期:      | 审核人/日期: |
| 调查结果, 整改措施和总结: |         |
| 填写人/日期:        | 审核人/日期: |
| 负责人:           | 预计解决日期: |
| 总结:            |         |
| 编写人:           | 日期:     |
| 批准人/日期:        | 批准人/日期: |

|     |       |
|-----|-------|
| 工程部 | 质量保证部 |
|-----|-------|

注：如果需要本页可以复制，但应注明页码及总页数

#### 4.4 测试记录表

| 测试项目清单      | 完成人/日期 | 检查人/日期 | 是否符合 | 备注 |
|-------------|--------|--------|------|----|
| 空载热分布       |        |        |      |    |
| 装载热分布（最小装载） |        |        |      |    |
| 装载热分布（典型装载） |        |        |      |    |
| 装载热分布（最大装载） |        |        |      |    |
| 热穿透试验（最小装载） |        |        |      |    |
| 热穿透试验（典型装载） |        |        |      |    |
| 热穿透试验（最大装载） |        |        |      |    |
| 生物指示剂试验     |        |        |      |    |
| 挑战试验        |        |        |      |    |

#### 4.6 参加验证人员清单

| 姓名 | 职务 | 参加项目 | 签字 | 备注 |
|----|----|------|----|----|
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |
|    |    |      |    |    |

#### 4.7 报告附件清单

| 文件名称   | 页数 | 备注 |
|--------|----|----|
| 人员资质证书 |    |    |
| 验证依据   |    |    |
| 原始记录   |    |    |
| 仪器校验报告 |    |    |
|        |    |    |
|        |    |    |
|        |    |    |

### 附录三 欧盟医药产品管理法规第四卷 欧盟有关人用和兽用医药产品 GMP 指南 附录 1 无菌药品生产 有关灭菌方面的条款摘录

- **原则**
- 为降低微生物、微粒和热原污染的风险，无菌药品的生产应有各种特殊要求。这在很大程度上取决于生产人员的技能、所接受的培训及其工作态度。质量保证极为重要，无菌药品的生产必须严格按照精心制订并经验证的方法及规程进行。产品的无菌或其它质量特性绝不能仅依赖于任何形式的最终操作或成品检验。
- 无菌药品生产所需的洁净区一般可分为 4 个级别：
  - **A 级** 高风险操作区，如：灌装区，放置胶塞桶、敞口安瓿瓶、敞口西林瓶的区域及无菌装配/连接操作的区域。通常用层流操作台/罩来维护该区的环境状态。层流系统在其工作区域必须均匀送风，风速为 0.36-0.54m/s ( 指导值 )。应有数据证明层流的状态并须验证。在密闭的隔离操作器或手套箱内，可使用单向流或较低的风速。
  - **B 级** 指无菌配制和灌装 A 级区所处的背景区域。

- C级和D级 指生产无菌产品过程中重要程度较次的清洁操作区。

- **最终灭菌产品**

28. 原料和大多数产品的准备/配制至少应在 D 级区进行，以降低粒子和微生物污染的风险，并与过滤及灭菌操作的要求相适应。微生物污染风险比较高时，如容易长菌的产品、配制后要等相当长时间方可灭菌的产品或因故主要不在密闭容器内进行配制操作的产品，配制必须在 C 级环境中进行。

29. 最终灭菌产品的灌装应至少在 C 级区进行。

30. 当环境对产品污染的风险比较大时，例如灌装速度慢或容器是广口瓶、或是须暴露数秒钟后方可压塞的产品，必须在 C 级区内局部 A 级条件下灌装。软膏、霜剂、悬浊液以及乳剂一般应在 C 级区配制和灌装，然后作最终灭菌。

80. 应监控灭菌前产品的微生物污染水平并确立控制标准，此标准与所采用灭菌方法的效果相关。必要时，还应监控热原。可能情况下，应在紧挨灌装点的位置，用除菌过滤器将所有药液，尤其是大容量注射剂进行除菌过滤。

81. 无菌操作所需的物料、容器、设备和任何其它物品都应灭菌，并通过与墙密封的双扉灭菌柜进入无菌操作区，或以其它方式进入无菌操作区，但不得引入污染。非燃性气体应通过除菌过滤器进入洁净区。

82. 任何新的工艺都须验证其有效性。应根据工艺及设备的实际运行情况，定期进行再验证，确认已验证的状态，或在工艺及设备有重要变更后，进行再验证。

- **灭菌**

83. 所有的灭菌工艺都应验证。应特别注意那些在现行的欧洲药典中没有收载的灭菌方法或者被灭菌产品不是一种简单的水溶液或油溶液时所采用灭菌方法。可能条件下，应尽量采用热力灭菌法。任何情况下，所采用的灭菌工艺必须同时获得注册和安监这个部门的认可。

84. 任何灭菌工艺在投入使用前，都必须通过物理检测手段和必要时的生物指示剂试验，来验证其对产品的适用性及灭菌效果，即每种被灭菌品的所有部位都达到了设定的灭菌要求。应对工艺的有效性定期进行再验证（一年至少一次）。设备有重要变更后，应进行再验证。应保存再验证的结果和记录。

85. 所有的被灭菌品均须按规定的要求处理，以获得良好的灭菌效果，灭菌程序的设计应确保灭菌完全。

86. 应通过验证确立所有灭菌程序的装载方式。

87. 应将生物指示剂作为灭菌监控的补充手段。应按供货商的要求保存和使用生物指示剂，并通过阳性对照试验来确认其质量。使用生物指示剂时，应采取严格措施，防止由其所致的微生物污染。

88. 应当有明确区分已灭菌产品和未灭菌产品的方法。每一车（盘或其它装载设备）产品或物料均应贴签，清晰地注明品名、批号并标明是否已经灭菌。必要时，可用湿热灭菌指示带来指示一批（或一个亚批）是否已灭过菌，但事实上，灭菌指示带并不能确保该批的无菌特性。

89. 每一个灭菌批次都应有灭菌记录。应把灭菌记录作为该批产品放行与否的一个依据。

#### • 热力灭菌

90. 每次热力灭菌均应用适当大小的记录纸记录灭菌过程的时间/温度曲线。也可用具有适当精确度和准确度的其他设备记录。应通过验证确定监控和/或记录灭菌温度探头的位置。可能条件下，在验证过程中，应在同一部位安放另一支独立的测温探头作对照。

91. 可使用化学或生物指示剂，但它们不得替代物理测试。

92. 应留有足够时间保证所有被灭菌品都达到设定的灭菌温度后，才开始计算灭菌时

间。每种装载方式所需升温时间均须测定。

93. 在灭菌高温阶段后，应有措施防止冷却过程中已灭菌品遭受污染。任何与产品相接触的冷却用液体或气体都应当是灭过菌的，除非能证明任何渗漏的容器不可能被批准投放市场。

- **湿热灭菌**

94. 湿热灭菌程序监控的参数应包括灭菌温度和压力。程序控制仪表通常应独立于监控及记录仪表。如采用自控和监测系统，该系统应经过验证，以确保符合关键工艺的要求。该系统应能记录系统本身以及工艺运行过程中出现的故障，操作人员应监控这类故障的发生。应定期将独立的温度显示器的读数与灭菌过程中记录获得的图谱对照。对腔室底部装有排水口的灭菌柜而言，可能需要测定并记录该点在灭菌全过程中的温度数据。如灭菌程序中包括抽真空操作，则应经常对腔室作检漏试验。

95. 被灭菌品如果不是密封容器中的产品，则应用合适的材料将其适当包扎，所用材料及包扎方式应有利于空气排放、蒸汽穿透并在灭菌后能防止污染。在规定的温度和时间内，被灭菌物品所有部位均应与灭菌剂充分接触。

96. 应注意，灭菌用蒸汽应达到适当的质量标准。蒸汽中含添加剂的量不应给产品或设备造成污染。

## **附录四 FDA Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice** 有关灭菌方面的条款摘录

接触无菌产品的设备表面或无菌容器以及密封材料必须保持无菌，以保证药品不被污染。当潜在的污染出现之前，必须考虑接触无菌药品的表面的无菌程度。在无菌生产过程中，验证高污染风险设备的灭菌过程与验证药品本身、药品包装容器以及密封材料的灭菌过程是同等重要的。本文中将要提到目前广泛被应用的两种灭菌方法，即湿热灭菌和干热灭菌。当然，在本指南提到的灭菌原则也可用于其他的灭菌方法。

对于最终灭菌产品而言，每个批次，都必须通过灭菌来保证无菌生产及其设备的无菌性。为了保证产品的无菌状态，在灭菌、运输、设备装配、容器、密封材料都必须严格符合灭菌方法要求。

### 1. 质量控制和验证

验证研究的目的是为了论证灭菌程序的效用。在一定的周期之后，必须进行再验证。装载产品的情况，生物指示剂以及温度探头的位置应该被记录在验证记录中。根据验证中的装载形式，用来指导并应该记录后续生产的所有批次的装载情况。

在蒸汽灭菌程序中，从灭菌腔体内去除空气是一个重要的环节。因为空气隔热的特性，使得能量不容易传递，所以其得到的热致死率比纯蒸汽要小。同时必须注意到，微生物的热抵抗能力随着不同的被灭菌的物质不同而不同。由于这个原因，在灭菌验证中，必须仔细考虑包裹生物指示剂的材料特性和类型，以保证其具有代表性。

应该评估灭菌器或灭菌车（运用于在线灭菌）内热量难以达到的潜在点。例如，在管道内安装过滤器会导致压差的出现，这会显著的导致在下游形成温度降。我们推荐在过滤器下游使用生物指示剂。

空载验证是为了评估灭菌器内各点的均匀性（如温度、压差）。对于均匀性的研究，应该通过校验后的测量设备来完成。

热穿透研究必须在在确定灭菌装载后。在装载后的腔体内进行灭菌验证可以论证热量进入灭菌物品的效率以及确认潜在灭菌不足物品的热穿透状况。在包括最难灭菌点的装载物品中放置生物指示剂是一个确认灭菌过程效能的最直接的途径。一般来说，生物指示剂应该贴近温度探头放置，以便来评估生物热致死率与基于热输入而预测得出的热致死率之间的关系。当确定了最难灭菌的物质后，就必须特别注意过滤器、填充材料、泵的灭菌情况。此外，还必须特别注意紧紧包裹的地方、厚厚打包的物品、考虑安全而系得很紧的材料、非常长的管子、无菌过滤器、防潮湿过滤器，等等。

基本上，此类灭菌方法的循环应该基于满足最难加热点的热致死率要求。对于灭菌过程，应该评价  $10^{-6}$  或更好的灭菌水平。如果需要获得更多信息，不妨参考FDA指南“*Guideline for the Submission of Documentation for Sterilization Process Validation in Applications for Human and Veterinary Drug Products*”。

灭菌器验证程序必须时刻关注最难穿透或加热点的情况。通过质量控制、维护、变更控制、定期的周期确认来核定灭菌器的适用程度。变更控制应该充分地落实到装载形式改变或者灭菌器的变化上去。

### 2. 设备控制和仪器校验

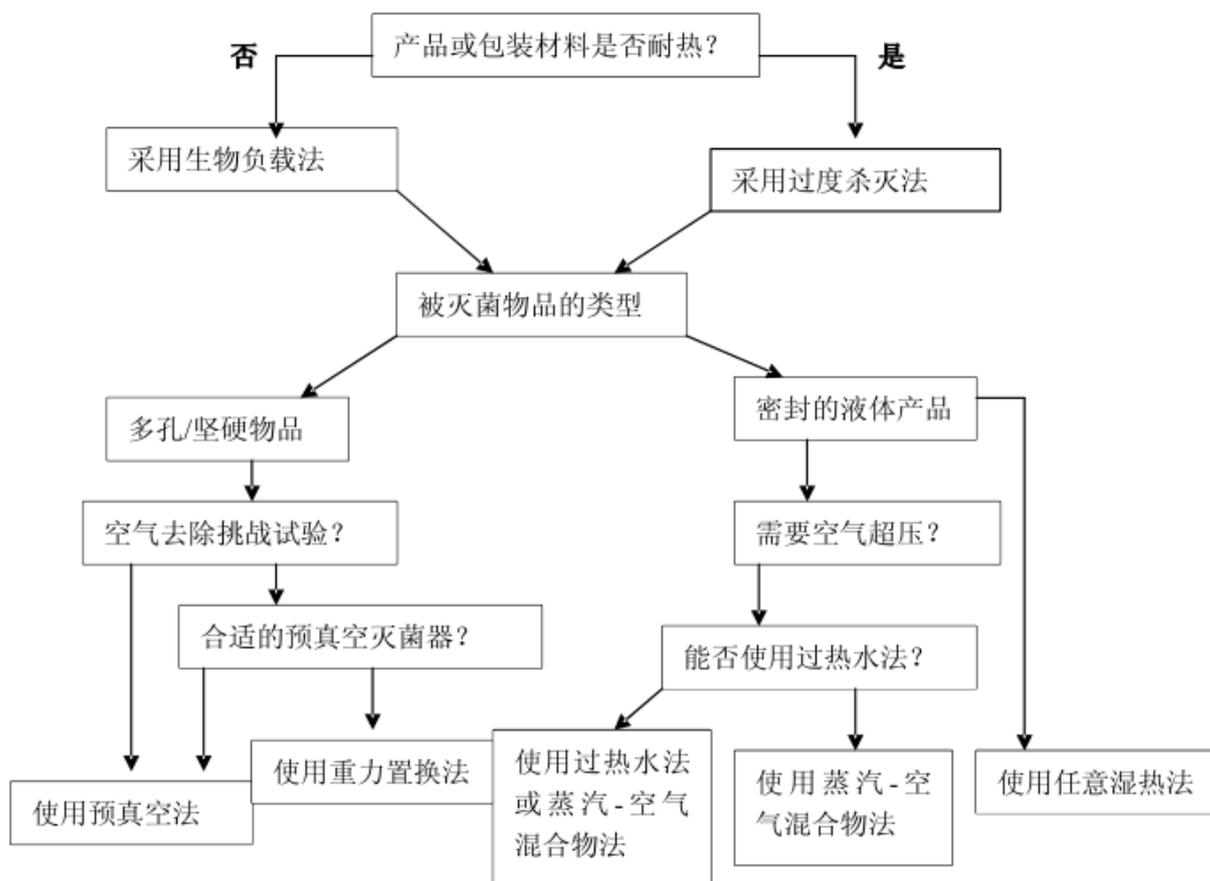
对于验证和过程控制，保证依靠检测设备从灭菌周期采集来的数据的可信程度是极其重要的。检测设备应该定期检定。成文的程序应该被用来确定检测设备是否已被检定。例如，

我们推荐该程序应该包括以下几点：

- 温度和压力监测设备应该在已适宜的周期内检定。验证研究中使用的探头应该在验证前、后校准。
- 在灭菌器内测量时间的装置应该定期校准。
- 应该确定生物指示剂内生物数量。生物指示剂应该在适宜环境下存放。
- 只要供应商的具有质量体系认证的资质话，在测试中，其提供的生物指示剂的 D 值就可以被接受。当然也可以通过培养基培养菌种（孢子条或玻璃安瓿）应该被用来确定生物指示剂的热忍耐能力（D 值）。D 值的确定可以通过独立的研究室来进行。
- 如果适用，也要校正测量蒸汽纯净度的仪器。
- 对于干热隧道，应该使用已经校正的测量履带的速度的仪器。生物内毒素挑战实验用品必须能在实验室内制备和标定。

为了加强过程控制，设备应该容易消毒、管道应该有倾斜设计，并有适宜的冷凝液的排放措施（如果适用）。在设备控制方面，应该在那些控制点放置测量仪器，从而可以迅捷的侦测到不可预计变化的出现。在生产程序和批次记录中应该记录使用手动控制阀或在线灭菌操作的情况和步骤。灭菌设备应该妥善维护，以保证它稳定和高效。诸如对稳定时间这种性能指标参数的定期评估，对于判断设备是否仍然保持验证时状态是非常重要的。

**附录五 PDA Validation of Moist Heat Sterilization Processes: Cycle Design, Development Qualification and Ongoing Control Technical Report No. 1 (2007 Revision) of PDA 摘要 (湿热灭菌选择决策树)**



## **附录六 采用残存概率法时 D 值的测试及计算**

参阅 ISO 11138-1 Sterilization of health care products- Biological indicators- Part 1:General requirements

ISO 11138-3 Sterilization of health care products- Biological indicators- Part 3: Biological indicator for moist heat sterilization processes