

1. 范围

这份报告为最终灭菌产品在放行时删除无菌测试提供了基于验证、运行、文件程序的标准足够保证。在以前，合理的灭菌验证程序包含为保证参数放行的所有的必要信息，但是对参数放行没有明确的要求和描述。读者都是参考那些对灭菌工艺验证有详细描述的技术文件。例如，PDA 技术专题 1 “蒸汽灭菌程序验证”。

根据工艺验证而不是依赖于无菌测试，无菌工艺参数的记录提供了记录的参数。根据于这篇报告中的方法以及基于对无菌工艺参数记录的审核，一个好的湿热灭菌工艺可以发布放行来对最终容器里的产品无菌进行验证。

技术报告 30 仅仅应用在湿热灭菌产品。如果其他灭菌工艺的原理在此报告中有探讨过，也可以考虑将此报告应用早其他的灭菌工艺上。

2. 简介

用于无菌生产工艺的蒸汽灭菌部件和设备没有无菌测试可以进行常规放行。自从没有无菌测试，参数放行和程序效力基于过程监控。只要无菌工艺验证合格，管理机构通常是可以接受这种做法。

另一方面，基于符合要求的灭菌程序记录审核和无菌测试结果，最终灭菌产品可以进行典分配的放行也是很典型的。在制药行业数十年，这种方式通常都被接受。但是，因为无菌测试在无菌指示上有太多的限制而产生瑕疵，通过程序监控和记录审核确保灭菌程序参数在验证说明内是决定验证成功的唯一明确的方法。

现在最终灭菌工艺控制和验证的能力，再加上公认传统无菌测试数值的缺失，为管理部门接受无专用注册设备或其他控制障碍的参数放行提供了机会。

2.1 无菌测试的重要性

无菌测试长时间被公认为没有足够的信心确定产品是无菌的。药典中的观点，影响无菌产品的放行不是基于无菌测试而是依赖验证已得到了公认。Spicher 和 Peters 精心详细的对无菌测试的数据进行统计。从这些数据上可以清楚的显示，无菌测试除了导致灭菌程序的失败，不能发现任何问题。发现污染的可能性 (p)，污染密度 (c) 以及样品数 (n) 可以用下列等式表达

$$P=1- (1-c) ^ n$$

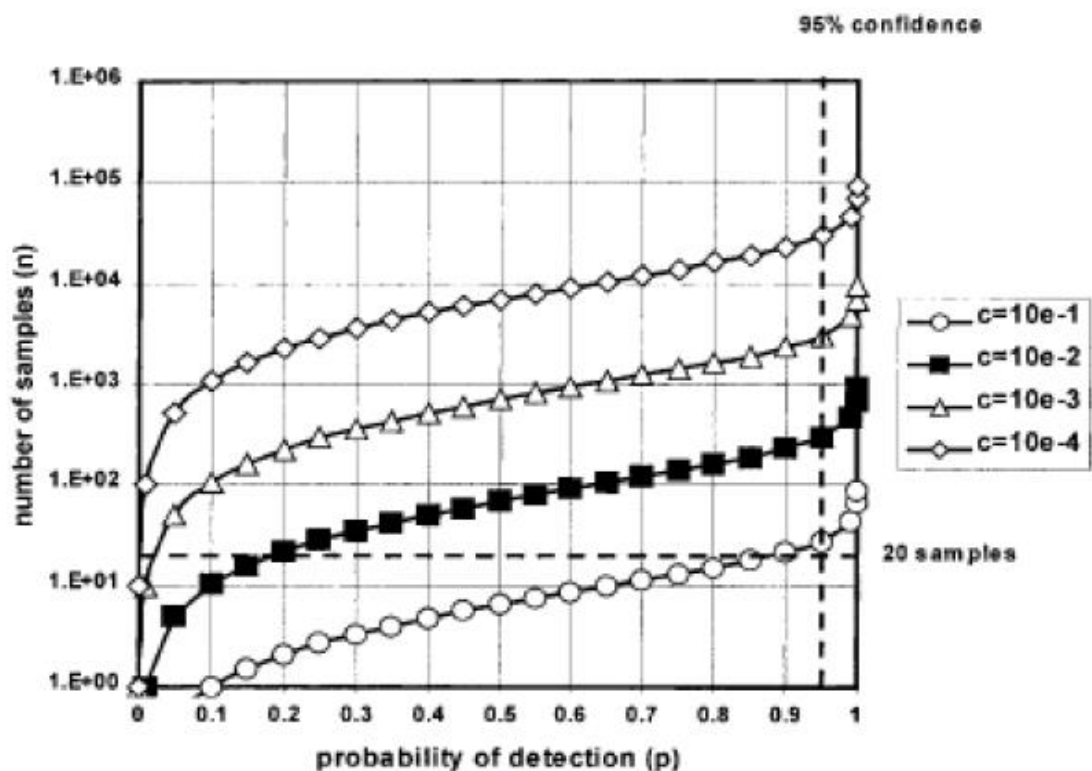


Figure 1

从无菌保证的目的看来， c 变成了无菌保证水平（SAL）， p 就是无菌测试中能达到无菌信心水平。从这个等式（图 1）可以很容易理解，药典要求无菌测试 20 个样品，SAL 为 10^{-1} 时，达到的 95% 信心水平还不够。当 SAL 为 10^{-3} （无菌灌装中污染控制能达到的最低水平）需要测试 3000 个样。（当 SAL 为最终灭菌要求的 10^{-6} ，理论上需要 3×10^6 ，当计算模型正确得出这么大的数据毫无意义。）因此，在对最终容器产品的无菌工艺验证中无菌测试明显没有意义。

2.2 湿热灭菌控制

药典要求，在最终容器中的产品灭菌允许的理论的最大污染比率是在 10^6 个单位中出现一个污染单位。可以通过过度杀灭程序，生物负载/生物指示剂程序，或者生物负载基础程序来实现 10^{-6} 的无菌保证水平。过度杀灭法提供了额外的安全系数，经过正确验证的每一种方法都可以可靠的达到无菌保证要求的程度。

灭菌验证是参数放行的关键。需建立在和选择的灭菌方法保持一致的可靠科学的考虑之上。最终容器中产品湿热灭菌可以通过饱和蒸汽、空气蒸汽混合、过热水等这几种程序实现。一旦容器密封，蒸汽不能进入并且只能和容器进行热交换。蒸汽的饱和度是灭菌柜多孔性装在程序的很关键的因素，但仍然没有容器密封程序重要。它的无菌保证只需考虑冷点的容器里的时间/温度曲线。在几何上的装载模式，冷点是可以重现的。

蒸汽灭菌验证在 PDA 技术专题 1（目前已修订）和等效的文件中有全面的描述。

在程序开发时，选择的程序的有效性应当经过证明。即使是标准的过度杀灭法，也应该显示在灭菌产品的所有部分的灭菌条件都应该达到和有效。

如果灭菌有效性在灭菌程序开发过程中有足够的体现，并且冷点的位置已经找到，灭菌工艺完全取决于容器冷点的时间/温度曲线的测量。过程数据测量可以精确到 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。1°C 的偏差（典型的 F0 值的计算通常采取 $Z=10^\circ\text{C}$ ）会使灭菌过程中的 L 值降低至 0.79（等式 1）。

$$L=10^{(T-121)/Z} \quad \text{或} \quad L=10^{(T-121)/10} \quad \text{或} \quad L=10^{(-0.1)} = 0.79$$

给定 D 值的孢子数量灭菌需要的有效的过程时间 (F) 因子从而被延长至 1.26 (等式 2)

$$1/L \quad \text{或} \quad 1/0.79=1.26$$

因而, 在 121 度下 D 值 1 分钟的生物指示剂孢子在 120 度 D 值有 1.26 分钟。如果指示剂在 121 度灭活 8 分钟下降 8 个对数规模, 在 120 度下只能下降 6.35 个对数规模。在这种情况下, 无菌保证水平 (SAL) 将会从 10^{-6} 降至 $10^{-4.4}$ 个数量级的非无菌发现水平超过了药典无菌测试的灵敏度 (图 1)。为使发现可能性达到 95%, 将要测试 3000 个样品。

因此, 从药典无菌测试中获取不到其他信息除非:

与冷点位置温度相关位置的温度曲线已验证

在线控制措施显示灭菌程序中产品的所有部分都已验证, 没有遗漏。

2.3 参数放行的定义

参数放行时不依赖无菌测试的制药上的无菌放行。无菌生产意味着灭菌程序中审核参数达到要求是验证过程确定的基础。最终容器产品灭菌的典型要求意味着验证灭菌程序达到 10^{-6} 无菌保证水平 (SAL) 或更好。一旦确定基于以上来进行参数放行, 不能使用无菌测试来对是否放行进行否决。

2.4 参数放行的先决条件

参数放行的先决条件如下:

灭菌工艺经过验证达到 $SAL \geq 10^{-6}$

明确关键工艺参数并设立限度, 在产品放行之前必须满足要求。

建立规程, 确保放行的全部成品都是灭菌工艺的主要部分 (用于这个目的的物理/化学指示剂)。

建立规程, 确保关键工艺参数满足灭菌的每个装载 (在不同的装载中可以重现)

建立规程, 确保关键工艺参数满足装载的每个部分 (最小条件下可以到达装载的所有部分)

建立规程, 确保产品放行过程中所有相关的数据都有记录并审核。

所有与产品放行决定相关的数据的审核文件都要保留。控制监督管理局审核的文件应当能被找到。

建立并遵循有可接受标准和计划的维护、变更控制、周期性再确认规程。

3 湿热灭菌

在 PDA 技术专题 1 (现在已修订) 中提出了这个主题的许多详细内容。下面的内容是在 PDA 技术专题 1 指南中发布的内容的摘要和总结。

3.1 程序开发

灭菌方法的选择取决于对程序开发重要的因素。所有灭菌方式的装载模式的研究是最基本的, 标准过度杀灭程序的生物负载描述是可选的。在灭菌程序开发过程中, 需要考虑最大灭菌条件 (例如灭菌温度), 虽然对参数放行来讲不是基本要求。

3.1.1 装载模式确认

在每一个灭菌工艺中需要进行温度分布和热穿透研究。每一种灭菌器的装载模式都要经过充分的确认。测试结果应当可重复。装载中应当放置足够数量的探头 (≥ 10 或在 PDA 技术专题 1 中要求)。

3.1.2 热穿透

需进行热穿透研究

每个产品和容器的尺寸和型号

最小和最大装载

在产品的合适的灭菌程序中，要确保装载中最冷的容器接收到足够的热量。在确认前有必要先进行装载容器分布，根据装载容器分布确定探头的正确位置。

3.1.3 灭菌时间

记录每个探头的温度，以及每个装载容器的冷点的灭菌温度的最小停留时间。作为一种选择，在一个给出的程序中，在曝热的后阶段要确定冷点达到的最小的 F₀。

3.1.4 生物指示剂确认

使用合适的生物指示剂来确认物理验证和微生物验证之间的相互关系。例如，嗜热脂肪芽孢杆菌，肉毒梭状芽孢杆菌等。在书面规程中需详细说明所有指示剂。典型内容有：

微生物名字

供应商

指示剂中芽孢数量

有效期

储存条件

抵抗力（动力学失活或存活-杀灭时间）

在热穿透研究过程中同时也要进行生物指示剂研究。生物指示剂应当和温度探针一起放在容器中。

3.1.5 最小灭菌效力的确定

灭菌工艺程序应当验证确保每个灭菌容器中达到 10⁻⁶ 的无菌包证水平。

3.1.6 灭菌前的生物负载

过度杀灭程序不需要考虑灭菌前的生物负载，非无菌产品中，延长预期地时间周期，一开始需要进行三批本身生物负载的简单描述。建立生物负载警告和行动限。常规测试的程度也应当被清楚定义。

应当建立最初产品混合到最后灌装容器灭菌的最大操作时间限，确保灭菌前的微生物负载不会超出制定的水平。

3.1.7 容器/密封完整性

每个容器或者密封系统必须证明在产品的整个有效期内是完整的。

3.2 工艺验证

3.2.1 安装确认/运行确认

确认程序要遵循指南观点确定的计划，如 PDA 技术专题 1 和 ISO 11134（5）。在灭菌器验证过程中，用来测量工艺参数的所有仪器的校验应该可追溯至国家标准。按书面规程中预定义的允许标准、验证频率、记录保存来进行校验。用于指示、记录和控制的安装仪器的校验需在现场进行。如有可能在原地不要拆除仪器，通过规定的程序和已知的准确性转移到认证标准。为了便于变更控制，在书面 SOP 中应当明确灭菌器运行的所有信息。用探头或者数据记录仪来记录如温度、压力和时间等工艺参数并能证明其准确性。

3.2.1.1 安装/运行确认的重点

3.2.1.1.1 空载温度分布

必须确认空载温度分布。应该布置足够数量的探头（≥10 或者 PDA 技术专题 1 中定义的）并记录它们的位置。

3.2.1.1.2 压力

如果合适，应当挑战腔室的超压和真空测试的时间（腔室泄露测试）。

3.2.1.1.3 冷却时（如果使用）

应当了解冷却水的化学和微生物的状态。与灭菌的最终容器的外表面接触的冷却水应当保持较低的生物负载（ $\leq 10\text{cfu}/100\text{ml}$ 或者满足官方给出的可接受标准）。

3.2.1.1.4 电子数据工艺系统的验证

应该与灭菌工艺相关的电子数据工艺系统进行验证。

3.2.2 性能确认

在 SOP 要求的工艺操作条件下进行设备确认的测试。验证方案包括符合 SOP 的一系列的文件测试，和接受标准。在灭菌器使用前，应当满足所有的接受标准。

3.2.2.1 性能确认的重点

3.2.2.1.1 温度分布

分布研究用来验证灭菌器的制造说明的均一性和稳定性。

3.2.3 再确认和变更控制程序

一个灭菌程序的再确认程序的建立至少包括下列描述：

灭菌工艺再确认（例如典型装载的温度分布，取决于最小 FO 值）

灭菌柜的明确的预防维护规程提供要求的维护计划，实施的 SOP，及时执行的职责和文件要求。

变更控制规程包括职责规定调查、超出调试范围、维修和再调试的灭菌柜的失效条款，以防主要计划外的维护，要求验证和授权以防过程改变。

3.3 工艺参数和记录

3.3.1 产品

微生物负载控制

确定和识别负载微生物的研究方法和结果应当进行合理描述：

取样和检测规程，使用的营养培养基，首先执行检测的数量和种类，扩大检测的检测频率

筛选出好氧和厌氧型的耐热细菌孢子。

3.3.2 关键工艺参数

根据在指定的灭菌柜使用的热处理介质来定义关键工艺参数。建立和定义一个关键工艺参数和典型的操作限度的明确的清单。关键工艺参数包括如下：

灭菌时间

最低灭菌温度

饱和蒸汽或蒸汽空气混合的腔室压力

控制过程的 FO 值积分的最低限度

当 SOP 中定义的关键工艺参数在工艺生产过程中未达到要求时，产品不能发运到市场

3.3.3 物理/化学指示剂

在湿热灭菌生产中，通过关键工艺参数的物理评估，使用蒸汽灭菌物理化学指示剂可以获取补充信息为参数放行提供跟多的信息。

3.3.4 记录

关键工艺参数必须进行记录

3.4 产品放行规程

建立详细的放行步骤和文件要求的规程。决定是否放行产品主要依据验证记录中定义的可接受标准。基于无菌评估和后续的可无菌产品放行列出下列要点。

3.4.1 程序记录审核

审核关键工艺参数的记录。

3.4.2 工艺的验证状态的评估

在和产品放行之前，先要进行一个成功的验证。另外，工艺应当进行周期性再审核，确保能持续运行计划的功能，例如：

再验证和灭菌器使用的校验数据的及时性和符合性

培训与再培训资料

灭菌器和监控系统中设备的偏差和变更控制记录

3.5 偏差和变更控制系统

SOP 应当对生物负载测试和监控程序的灭菌工艺中偏离可坚守标准的偏差和采取的行动进行适当的描述。包括偏差评估的意义，是否需要再验证。在变更评估意义和决定是否再验证的审核周期内，系统也要描述计划变更程序。

3.5.1 文件

上面所有的文件规程都应当可用。

4.定义

生物负载：灭菌前每个单位的活的微生物的数量和耐热性。

关键工艺参数：是灭菌程序中已确定的参数。满足所有的关键工艺参数是确保产品无菌保证水平达到 10^{-6} 或更好的基本。如果产品的关键产品参数没有达标，产品不能放行。

F0 值：在 Z 值等于 10，饱和蒸汽在 121 度下，和灭菌程序中大于 100 度的灭菌效率相等的时间的分钟数。

保持时间：在高压灭菌柜的腔室温度保持在预先设定的工艺温度的时间。验证保持时间需与产品装载下冷点的 F0 值相有关。

过度杀灭程序：使已知 D 值大于 1 分钟的生物指示剂下降至少 12 个对数的灭菌程序。实际上，生物负载下降不止 12 个对数。因此，对灭菌前的生物负载的要求最小。

参数放行：又称为无菌放程序，基于灭菌程序验证的有效控制，检测和文件来代替最终产品无菌检测（21CFR211.167（a））。在批次放行前，程序中的所有参数都应当符合要求。

性能确认：通过单独的程序测试和大量的取样或挑战，使程序或者产品符合预期要求并用文件记录。通常，用真实的产品材料或部分来执行。

单位未灭菌的可能性：在已知灭菌单位中找出未灭菌单位的数量。在卫生保健行业，灭菌工艺最大允许一百万中发现一个未灭菌的。

再验证：重复全部或部分确认。

孢子：微生物的休眠形式，为了抵抗不利环境。

无菌的：当没有活的有机体时，则认为是无菌的。（备注：在实践中，有关微生物还没有绝对的说法被证明（见灭菌））

无菌：是无菌的状态。无菌和无菌的都是一个既不能是一定程度的无菌也不能是部分无菌的术语。

无菌保证水平：通过详细的工艺本身的知识 and 有机体存在的可能性来评估一个灭菌程序的效力。通常的可能性表达是 10^{-6}

无菌测试：执行测试来确认是否存在活的微生物。

灭菌：破坏或消除任何形式的生命的物理或者化学过程。在这种情况下，它指的是微生物。（备注：在灭菌程序中，通过指数函数来描述微生物学属性的死亡或减少。因此，灭菌程序中幸存的微生物数量用可能性来表达，可能性可以降到很低但是不能降到零）

最终灭菌：物料和部件组合、密封然后进行灭菌的程序。物料和组件可能在组合工艺前进行单独灭菌。