

生物药无菌工艺实践总结

近年来随着抗体、融合蛋白、ADC 等生物药的爆发式增长，业内对其生产工艺的研究也越发深入和广泛——无菌生产工艺贯穿生物药生产的全过程，尤其是最终产品的无菌生产工艺，其关注的各个细节、实践的各个工艺步骤，都是无菌生产工艺控制的重点。

文 / 周昀

生物药大多以无菌制剂的形式给药，因此无菌制剂灌装是现代医药工业中非常重要的一个环节，它是指在无菌条件下将药品灌装到容器，并对灌装容器进行密封的生产过程。

作为整个生物药 GMP 生产的最后环节，无菌制剂灌装需要拥有专业知识且受过严格培训的人员、自动化程度高且运行流畅的设备、良好的设计与严格的规范，以保证最终成品的质量。高标准的无菌保证体系贯穿整个复杂的连续式生产过程。

本文将从人员、物料耗材、设备、厂房设施布局及设计、无菌工艺设计等 5 个方面阐述生物药无菌工艺关注的重点及相应的解决方案。

1. 对人员的要求

对无菌药品的生产来说，人员是最大的污染源。《药品生产质量管理规范（2010 年修订）附录 1 无菌药品》（以下简称“新版 GMP 附录 1 无菌药品”）第二十

本文作者系东曜药业有限公司偶联及制剂生产总监。



层流罩

条明确规定：“凡在洁净区工作的人员（包括清洁工和设备维修工）应当定期培训，使无菌药品的操作符合要求。培训的内容应当包括卫生和微生物方面的基础知识。未受过培训的外部人员（如外部施工人员或维修人员），在生产期间需进入洁净区时，应当对他们进行特别详细的指导和监督。”

1.1 人员培训及个人卫生

根据 GMP 规范要求，所有从事无菌药品生产的人员都应经过培训，接受培训人员不仅包含生产操作人员，还应包含生产辅助人员（如生产清洁人员、设备维护人员等）；培训内容根据岗位

分别有 GMP 基础知识、无菌更衣操作与实践、微生物学基础知识、洁净区行为规范、无菌操作技能、污染控制、无菌取样等；培训的重点在于 GMP 及微生物学知识；高风险区域操作人员的无菌操作技能应通过无菌工艺模拟试验来确认。

无菌生产人员培训应理论结合实践，在掌握基础理论的基础上，进行多次的实践；在实践过程中，应安排有丰富经验的员工在现场观察和指导，针对新员工在操作过程中出现的问题进行指导。确认员工具备独立操作能力后，还应进行理论考核和现场操作考

核，合格后，签署岗位资质证书，员工才具备上岗资质。

根据 GMP 规范要求，在洁净区操作的员工需要勤理发、勤洗澡、勤剪指甲，注意个人卫生，不得化妆和佩戴饰物。针对个人卫生相关规定，可以采取如下方式降低人员对洁净区的污染风险：

- 厂房设计时，考虑完善的公共卫生设施，如设置合理的淋浴间；
- 日常管理中，多对员工进行宣导和要求，提示员工注意个人卫生习惯，定期对员工卫生情况、是否化妆或佩戴饰物等进行检查；
- 设置专门的物品收纳柜，用于饰物等个人物品的存放。

1.2 良好的洁净区行为规范

根据验证数据，严格控制进入洁净区工艺房间特别是无菌区域的人数，尽量减少进入无菌生产洁净区的人数和次数；人员进入洁净区前，应用消毒剂（如酒精等）消毒双手，在洁净区生产操作过程中，应定时进行手部消毒，当洁净服或手套破损、脏污时及时返回更衣间更换；不得裸手直接接触药品或已灭菌的物料、器具等物品，无菌工器具要保存在 A 级环境中；人员在洁净区移动要缓慢，动作应轻缓，在无菌区人员双手不得下垂、叉腰、夹在腋下或高举超过肩部，应保持整个身体在单向气流通道之外；在高风险操作区，人员间应保持一段距离，人员的着装不可互相接触；无菌生产洁净区内所有开、关门的操作，尽量避免用手直接接触，宜使用肘部、前臂、背部等身体部位来完成。

1.3 衣物管理及更衣确认

具备完善的洁净服管理规程，更衣 SOP；洁净区所用工作服的

清洗和处理方式应能保证其不携带有污染物，应按相关 SOP 进行工作服的清洗、灭菌（如有需要）、转移、使用等。

所有进入无菌生产洁净区的工作人员，必须经过更衣程序的确认，更衣确认要先进行更衣培训，然后进行实操更衣取样，首次更衣确认至少要完成 3 轮，更衣确认表面微生物取样点设置要合理，有无菌风险的部位必须取样，如手、手肘等，手部取样时对于取样的部位、接触碟接触时间都要有明确规定。

2. 对物料耗材的要求

在无菌药品生产过程中，物料作为辅料或原料，是药品的重要组成部分，其对相关微生物限度及内毒素的控制水平是决定药品能否满足既定的质量要求的关键因素之一；相关关键耗材，尤其是直接接触药品的耗材，其对微粒及微生物的控制也是无菌药品生产质量控制的重要环节，下文将从物料耗材的放行检测及使用前的处理控制两个方面加以阐述。

2.1 物料耗材的质量标准及放行检测

无菌药品生产的相关原辅料，虽然配制成药液后，在制剂生产过程中会经过除菌过滤，但除菌过滤前仍需要检测药液的微生物限度，这也是从滤器的细菌截留效率的风险角度考虑，GMP 法规也有相应的要求，因此原辅料也必须有相应的微生物限度控制标准，其控制标准应从科学角度出发，要同最终除菌过滤前药液微生物的限度相匹配。此外，无菌药品生产过程中的除菌过滤，一般并不能去除细菌内毒素，而无菌药品的成品质量标准都会有细

菌内毒素的标准，因此，对相应的原辅料也要制定合适的细菌内毒素质量标准。制定了相应的质量标准后，每批次物料在放行检测过程中，需要这些微生物指标符合要求后才可用于生产，即使是条件放行，也应满足同微生物相关的质量指标符合要求的放行前提。

对于无菌制剂生产的包装材料，尤其是内包装材料，如果是 RTU (Ready to Use,即用型) 包材，不但要严格审核其质量标准，而且要确认其达到质量标准所采取的控制手段及措施，例如，如何进行相应的清洗、清洗流程是怎样的、使用的清洗设备怎样、清洗效果是否经过验证、清洗过程是否有相应的中控取样、中控标准是怎样的、使用哪种灭菌或除热原方式、灭菌或除热原设备是否经过确认等。

对于无菌药品生产相关的关键耗材，尤其是直接接触药液的耗材，如果是即用型，其质量标准中应该涵盖相关微粒及微生物的控制指标，出厂放行时最好也进行相应的检测。

2.2 物料耗材使用前的处理、控制

对于物料，使用前需要确认放行检测结果是否符合标准、包装是否完好、取样是否具有代表性。

对于包材，尤其是内包材，如果采用的是 RTU 包材，使用前需要核对其 COA（成分分析报告），确认其放行检测结果符合质量标准，此外，使用前还需确认其包装的完整性；如果采用的是非 RTU 包材，采购到工厂后进行相应的清洗、灭菌（除热原），工厂需要具备相应的清洗、灭菌（除

热原)设备,需要建立相应的清洗、灭菌(除热原)程序,清洗、灭菌(除热原)效果也需要验证,而且进行每年2次的无菌工艺模拟时也应验证包材无菌性是否可靠。

对于与药品直接接触的关键耗材,如果要进行清洗、灭菌,需要进行清洗效果确认或验证;如果进行相应的灭菌,需要进行相应的灭菌装载验证,确保其灭菌效果的可实现性和重现性。

3. 设备对无菌控制的相关要求

对于无菌制剂生产来说,工艺设备是无菌保证最重要的因素之一,设备本身的性能,设备运行过程中的故障等都会对无菌生产产生正面或负面的影响,下文将从3个方面分别阐述设备对于无菌制剂生产的控制要求。

3.1 设备的选型与设计

在设备选型时,第一步,先从产量、生产产品种类,后期运维及能耗等角度出发确定大方向,比如是选择ORABS(开放式限制进出隔离系统)还是Isolator(隔离器),需要几条生产线,设备速度需要达到每分钟多少瓶等。第二步,从设备URS(用户需求说明)出发,要充分考虑后期生产的无菌保障,设备与产品直接或间接接触的部件如何做到无菌保证,尤其是Isolator,如何进行VHP(汽化过氧化氢灭菌),如何保证VHP效果,胶塞锅等拆卸部件如何在湿热灭菌后传入Isolator,又在什么情况下拆包安装;如何保证在设备出现异常的情况下,人员能通过有效干预,解决异常,确保生产的正常运行……以上这些都是在设备选型时需要重点考虑的。

此外,在设备进行DQ(设计确认)过程中,需要充分考虑人员操作的便捷性,还要考虑对A级区等关键区域的气流影响。因此,在DQ阶段,需要进行木模测试,按照设备1:1制作木制模型,确定ORABS或Isolator手套个数及位置,人员正常操作及干预的可操作性;A级区环境检测点位,产品具体流向,取样、剔废的位置等,也是需要在DQ阶段进行确认的。

3.2 设备维护与维修

对于无菌制剂生产设备,在出现异常时,需要由经过专业培训的设备工程师进行维修,确保设备能继续正常运行,保证产品质量。设备工程师在进行设备维修时,要遵循相应的GMP规范,严格按照无菌操作相关的干预原则来执行,尽量通过手套或已灭菌的工具进行相应的维修,维修过程、动作要轻缓,减少对气流的阻挡;维修结束后,需要对维修区域及其周围区域进行相应的清洁消毒;清洁消毒完成后,还要等A级区环境进行自净,自净结束后才可恢复生产。

设备维护要根据设备具体运行工况,做好维护计划,维护计划最好是在收集设备日常运营的数据基础上进行动态调整,计划性维护的频率和维护内容要根据设备的特点和实际运行时间来确定,做好预防性维护能有效降低设备故障率,从而降低无菌生产的风险。

4. 对厂房设施的布局和设计的要求

新版GMP附录1无菌药品的“第七章 厂房”中有多条内容规定,对于无菌药品的生产,其厂

房从功能到布局都有相应的要求,应确保无菌药品的生产环境符合GMP要求,满足药品生产需求。下文将从厂房设施布局及设计两个方面阐述对无菌药品生产符合性的基本要求。

4.1 厂房设施的布局

厂房设施布局要根据在药品生产中发挥的功能进行分区,不同功能区域要求布局合理,既要减少人员、物料的交叉,又要防止不同功能区域的污染及交叉污染。对于不同洁净级别的功能区,其压差至少要大于等于10 Pa;对于同一洁净级别的不同功能区,也应设置一定的压差梯度,通常设置为5 Pa。

对于无菌制剂生产线,其布局要根据厂房的形状、面积和工艺要求进行布局,通常有L型布局、T型布局等不同布局形式,整体要遵循的原则是:人员易操作,尽量减少洁净区面积,而且要便于后期设备维护保养。

对于空调系统、水系统的布局,在满足日常洁净区和设备运行的基础上,管路应尽可能短且简单,避免过多的弯管;如果有弯管或者管路过长,需要考虑风压、水流速的损失等因素。所以设计时这些辅助功能区域要尽可能靠近主要生产区域。

厂房布局还得考虑送风、回风的合理性,既要保证经高效过滤器过滤的新风尽可能均匀地分布到房间各处,又要避免经过高效过滤器的送风出来后直接到回风口,造成部分区域容易形成“死区”,影响洁净区环境。

4.2 厂房设施的设计

厂房设计时要考虑日常监控和参观的需求,尽可能多设置观察窗、参观走道等,便于监控人



隔离器

员和参观人员不进入洁净区即可观察到主要功能间的相关操作。从低级别区域进入高级别洁净区宜设置缓冲间，尽量避免跨级别进入。跨洁净级别的管路需要做好密封，跨洁净级别的传递窗、缓冲间需要监控压差。

在满足工艺需求的前提下，尽量减少洁净区用水点。洁净区要减少地漏的布置，下水口要密封，需要设置空气阻断装置防倒灌；相关冷却水、冷冻水管路需要做好管路保温，避免管壁冷凝水影响洁净区环境。

5. 无菌工艺设计对无菌保障的作用

无菌工艺设计对于生物制剂生产的无菌控制起着直接的作用，一个好的无菌工艺设计能很好地保障生产的无菌控制水平，下文将从两方面阐述无菌工艺设计对无菌保障的作用。

5.1 除菌过滤及无菌灌装工艺设计

对于生物制剂，一次性技术的应用越来越广泛，尤其是对于除菌过滤及无菌灌装工艺来说。一次性系统通常包含三部分，即：药

液混匀系统，药液除菌过滤系统及药液灌装系统。一个好的设计通常要考虑如下几个因素：

- 系统无菌性能很好地得到保证；
- 系统简单便于操作；
- 系统药液损耗低。

在满足上述几个条件的基础上，选择合适的一次性耗材厂家；根据自身设备特点，和供应商一起设计符合自身无菌工艺要求的一次性系统；设计完成后，拿到样品进行模拟操作，确认是否存在无菌风险；确认无误后，还需和供应商进一步沟通，将系统后期存在的变化一起设计完善，例如，不同厂家过滤器的替换、不同灌装装量的选择、除菌过滤阶段过滤器前后端的压力监控等。此外，还需考虑过滤器完整性测试的可操作性和是否存在污染的风险。

5.2 无菌工艺模拟 (APS)

无菌工艺模拟是验证无菌生产工艺是否可靠的最直接最有效的方式，新版 GMP 附录 1 无菌药品中明确阐述“应当尽可能模拟常规的无菌生产工艺，包括所有对无菌结果有影响的关键操作，及生产中可能出现的各种干预和

最差条件。”

在无菌工艺模拟实施前，先要完成风险评估，风险评估主要评估如下几个方面：

- 无菌工艺模拟干预情况评估；
- 无菌工艺模拟时限考察评估；
- 无菌工艺模拟环境菌选择；
- 无菌工艺风险点识别与评估。

完成评估，可为无菌工艺模拟试验方案的设计提供相应的依据。

无菌工艺模拟实施的前提条件还包括：厂房、设施、设备均处于放行状态；设备完成相应的维保及确认，且在有效期内；仪器、仪表已完成计量或校验，且在有效期内；生产环境符合相应生产区洁净度要求；人员经过培训；相关材料已准备完成等。

在无菌工艺模拟实施过程中需要模拟最差条件，模拟的最差条件通常包括：最大最小灌装速度，物料灭菌后存放的最长时间，设备灭菌后存放的最长时间，灌装的最长时间等。

在无菌工艺模拟实施过程中，需要根据日常生产过程中干扰次数的记录，设计确认无菌工艺模拟过程中实际需要模拟的固有干扰和纠正干扰的位置、次数、时间。

另外，在无菌工艺模拟中还需注意的是，对于各工序的不合格品，能培养的都需做好标记进行培养，不能培养的需要注明原因。

除了上述阐述的相应控制措施外，一个好的无菌生产工艺还需要员工在日常生产过程中不断总结、优化、提高。只有在实践过程中，针对识别出的风险，制定相应的行动措施，不断完善相应的 SOP，才能持续进步。 ●