

9206 无菌检查用隔离系统验证和应用指导原则

本指导原则是为无菌检查用隔离系统的验证和应用提供指导。

无菌检查用隔离系统是提供产品无菌检查试验用受控洁净环境的一套集成化系统，其性能特点主要体现在密闭系统的完整性，灭菌程序的有效性，无菌状态的维持能力等方面。

无菌检查试验应用隔离系统时，风险管理应贯穿无菌检查用隔离系统的设计、制造、安装、调试、验证、使用、维护和周期性回顾等工作流程中。

无菌检查用隔离系统的结构

无菌检查用隔离系统的内部舱体构成一个封闭的操作空间，与外界的空气交换均通过可截留微生物的高效空气过滤系统进行；并能采用经验证的方式对内部表面进行灭菌处理；在灭菌完成后，通过输入经过滤的洁净空气来维持内部的受控环境；同时，所集成的监测设备还可对灭菌过程和受控环境进行监控。在试验过程中，封闭的隔离系统不直接与外界环境相连，可使用无菌接口、快速转移通道或者带有灭菌功能的传递舱进行物料传递，物料经过表面灭菌处理后，通过无菌传递进入操作舱体，传递过程中可保持内部空间和外部环境完全隔离，降低物流引入污染的风险。隔离系统还从根本上避免了操作人员与试验物品的直接接触，操作人员无需穿着专用洁净服，而是通过舱体上的操作手套或半身操作服对舱内物品、仪器进行操作。因此，使用隔离系统进行无菌检查，可以避免实验用物品和辅助设备被污染，提高了无菌检查结果的准确性。

舱体

隔离系统的舱体按制造材质，可分为硬舱隔离系统和软舱隔离系统，硬舱隔离系统的舱体一般由不锈钢、玻璃或硬质塑料等制成，软舱隔离系统的舱体一般由软质塑料制成。

手套-袖套组件或半身操作服为安装在舱体上的部件，用于实现舱内的试验操作，半身服覆盖操作人员的躯干，并配有透明头盔和通风装置。

空气处理系统

无菌检查用隔离系统应配备可截留微生物的高效空气过滤系统(或更高级别的过滤系统)。隔离系统按内部气流组织区分，可分为单向流隔离系统和非单向

流隔离系统。静态时内部环境的洁净度应达到 A 级空气洁净度要求。无菌检查用隔离系统一般在正压下操作，内部应通过持续送风保持足够的正压来维持内部的无菌环境。

传递装置

灭菌后的培养基、稀释液和实验用品可以通过有灭菌功能的传递舱直接无菌传递到操作舱内。此外，不同的隔离系统舱体也可以通过专门设计的快速传递门（RTP）连接，以实现将实验物品在两个或多个舱体之间进行无菌传递。RTP 上未经灭菌的表面通过互锁环或法兰互相叠合，并通过密封圈封闭，从而防止微生物进入隔离系统内。

灭菌设备

隔离系统一般采用汽化的灭菌剂对内部环境进行表面灭菌，目前较常用的灭菌剂包括汽化过氧化氢、过氧乙酸等。灭菌蒸汽发生器可集成于隔离系统中，也可独立于隔离系统，与隔离系统之间的气体管路连接，应确保其密封性。灭菌剂应通过高效空气过滤器进入隔离系统内，灭菌结束后须对灭菌剂进行排空。

配套设备与辅助设施

监测设备 隔离系统应配置对内部洁净环境和系统运行状况进行监测、报警及记录的设备。监测设备应确保数据得到客观真实的记录，数据记录的可靠性应符合国家有关规定。

无菌检查设备和工具 隔离系统内部安装无菌检查使用的配套设备和辅助设施，如无菌检查过程中使用的蠕动泵、真空泵、物料装载支架，废弃物通道等。

隔离系统安装位置的选择

无菌检查用隔离系统建议安装在 D 级洁净度区域；如安装在受控非洁净区域，应进行充分的风险评估。安装房间应限制无关人员出入，安装地点应有足够的建筑承重，周围有足够的空间，以便于隔离系统的移动、物品的运输和正常维护。

用户应充分考虑隔离系统与安装环境之间的相互影响、及人员的安全性和舒适性，在设计中应采取措施降低运行风险。隔离系统应避免安装在房间通风口直吹的地方，否则可能导致隔离系统舱体部分区域被冷却，从而造成灭菌过程中灭菌气体在舱体内壁局部过度冷凝。对于某些灭菌技术，温湿度的控制是至关重要

的。当采用对温度敏感的灭菌方法时，隔离系统房间的温度应当是均一的。此外，灭菌剂排放的安全风险也应考虑。

隔离系统的验证

隔离系统的首次验证通常包括设计确认，安装确认，运行确认和性能确认等环节，验证计划的范围与程度应当基于科学的风险评估。

隔离系统在用于无菌检查前，其性能应得到全面确认且具有书面记录。若隔离系统配置了物料进出的传递舱或快速传递门接口，亦需验证。

设计确认

在设计确认中，应关注隔离系统的关键性能，确认其满足法规的一般性要求并考虑用户的使用特点，例如：根据使用目的，确定隔离系统的总体布局、工作流程、主要功能实现方式；评估材质和结构与灭菌过程的兼容性，防范灭菌不彻底及灭菌剂腐蚀的风险；评估无菌环境的维持能力，防范内部设备运行和试验活动带来的不利影响，防范外界污染侵入的风险；评估报警功能设计的合理性，监测设备和记录功能的可靠性；评估环境和人员的安全要求等方面。

安装确认

安装确认是对隔离系统进行现场检查，确认设备及其配套部件的供应与合同一致，制造符合设计要求，并已按照要求进行正确安装。在安装确认中，对于因设备配置缺失、选材错误、安装不当等造成的风险应重点关注。

运行确认

运行确认一般包括以下内容：

（1）操作性能

证明所有报警功能均能按照设定的要求正常工作、及隔离系统可按设定参数值运行。计算机化控制的隔离系统还应关注用户权限测试和数据记录功能测试。

（2）隔离系统完整性

隔离系统在正常运行条件下应能保持良好的完整性。完整性测试通常包括：已安装高效空气过滤器泄漏测试、舱体完整性、及手套和半身服的完整性。

高效空气过滤器需确认其安装正确，过滤器及安装框架无缺陷和渗漏，应至少对安装于舱体的末端过滤器进行检漏，包括单向流系统的循环高效过滤器和非单向流系统的进风高效过滤器；测试方法可参考《洁净室及相关受控环境第 3

部分：检测方法》的现行国家标准中附录 B6 已装过滤系统检漏进行。此外，非单向流系统还需评估舱体排风高效过滤器的泄漏风险。

舱体完整性可通过压力泄漏测试（例如压力变化法或恒压法）验证设备是否达到设计要求。测试期间应维持背景环境的稳定，避免温度和压差的剧烈变化，建议测试起始压力不低于最高工作压力的 2 倍。

手套和半身服完整性泄漏测试，在目视检查的基础上，手套采用手套检漏仪进行物理检测，测试方法可参考《洁净室及相关受控环境第 7 部分：隔离装置》的现行国家标准附录 E5；半身服可采用充入示踪气体（例如氨气）的化学方法或其他适宜的方法进行检测。

（3）压差

应验证隔离系统在静态和动态条件下维持舱体正压差的能力。静态条件下压差范围通常为 20~50Pa，最高不超过 100Pa。动态条件下，可由实验人员进行模拟无菌检查和空气采样操作的同时记录舱体压差，正常操作时应始终维持正压。

（4）气流

气流测试包括风速及换气次数测试，气流流型测试。

应确认设备在无菌检查状态下的风速和换气次数。单向流隔离系统应进行风速及均匀性确认，测试方法可参考《洁净室及相关受控环境第 3 部分：检测方法》的现行国家标准中附录 B4 进行。单向流系统平均风速一般应符合（通则 9205）中 A 级区的标准，非单向流系统换气次数应进行风险评估，保证充分的自净能力。

气流流型测试可参照《洁净室及相关受控环境第 3 部分：检测方法》的现行国家标准中附录 B7 气流方向检测和显形检查进行，采用去离子水雾发生器或者烟雾笔发烟，确认舱体内部的气流流型，应当能够证明所用气流方式不会导致污染风险。

（5）灭菌循环确认

该过程的目的在于确认所执行的灭菌程序各步骤正常，运行值和设定值相符。应针对制造商的操作要求选择适宜的灭菌方法，并确定该方法的操作步骤。

灭菌剂分布的合理性可通过足够数量的化学指示剂或生物指示剂布点的方式确认。应在满载条件下确认灭菌剂的分布，物料和试验工具满载的模式图应当

记录确定。

在灭菌完成后，应通入洁净气流将灭菌剂排出，在排出过程中可以采用催化分解装置，应注意评估灭菌剂排出过程的安全性。

性能确认

隔离系统性能确认一般包含以下内容：

(1) 灭菌效果确认

隔离系统舱体内表面、内部的设备及进入舱体的各种物料都应该经过处理以降低微生物负载。用于隔离系统、试验物品的灭菌方法应能达到或超过使生物指示剂下降 6 个对数值的效果。可使用某种合适的、高抗性的生物指示剂来验证。使用充分数量的生物指示剂进行试验可以从统计学上证明灭菌效果是可以再现以及灭菌剂的分布是否合适。尤其要注意那些灭菌剂浓度较低的地方。隔离系统内物品和设备满载时需要用更多的生物指示剂进行试验。灭菌程序的确定要经过三次连续的验证且能使生物指示剂下降达到或超过 6 个对数值。

应根据工作流程设计和无菌维持情况，确定隔离系统再灭菌的频率（参照隔离系统内部环境的无菌维持）。

(2) 灭菌剂残留确认

用户应评估灭菌剂残留可能导致的假阴性风险。在灭菌完成后，应通过能有效测定残留的低浓度量程检测器（或测试管）监测舱内灭菌剂的浓度，保证在无菌检查开始后，舱内的灭菌剂残留量不得影响无菌检查的结果。

环境中灭菌剂浓度应符合《工作场所有害因素职业接触限制第 1 部分：化学有害因素》现行国家标准的规定。

(3) 隔离系统内部洁净度确认

隔离系统舱体内部的洁净环境应进行确认，其悬浮粒子（静态），沉降菌，浮游菌和表面微生物按照药品洁净实验室微生物监测和控制指导原则（通则 9205）测定，应符合 A 级空气洁净度的要求。

离线灭菌的 RTP 传递容器，应当根据离线灭菌方式（如湿热灭菌，辐照灭菌等）进行灭菌效果确认，如为商品化的一次性产品，用户应要求制造商提供灭菌验证的证明，并在 RTP 传递容器与隔离系统对接后，对 RTP 接口两侧的灭菌面，以及容器内部进行表面微生物采样。

隔离系统的再验证

为保障隔离系统在生命周期内的稳定运行，维持有效的验证状态，用户还应根据风险评估情况制定隔离系统的再验证计划。

重要仪器仪表，例如压差仪表，温湿度仪表，风速仪表、流量仪表、粒子计数器、灭菌剂浓度传感器、称量天平等应定期进行校验。

隔离系统的再验证一般包括年度验证和期间核查，用户应按照文件化的程序及规定的可接受标准实施再验证。再验证计划应围绕密闭系统的完整性，灭菌程序的有效性，无菌状态的维持能力等关键性能进行评估。再验证的结果应形成记录并保存。

此外，用户在设备使用中，出现运行程序或参数变更、维护时更换重要配件、发生运行异常并完成维修后、安装场地变更以及长时间停用后的再启用等情况时，也应进行相应的再验证。

隔离系统的应用

用户完成隔离系统验证后，若将其用于无菌检查，应根据设备和自身无菌检查工作特点，确定相关的应用规范。

包装完整性验证

隔离系统常用的汽化灭菌剂在灭菌循环过程中不会穿透螺旋盖试管和玻璃瓶、压塞玻璃瓶、西林瓶、安瓿等密封完好的容器，然而，灭菌剂对某些包装物会产生不利影响，可能抑制微生物生长。为避免假阴性风险，可采取适当措施，如选用能够耐受灭菌剂渗透的包装材料或其它适宜的方法，以减少灭菌剂浸入包装和容器内，但所采取的措施应避免造成灭菌不彻底。在某些程度上，也可通过降低灭菌剂的浓度及缩短灭菌周期，来降低灭菌剂的渗透风险，但相应的灭菌循环应进行充分验证。

在试验物品放入舱体之前，有时也会使用灭菌剂对物品包装表面进行预处理，以减少微生物负荷。无论是预处理还是灭菌循环过程，应通过验证试验证明暴露于这些过程中的供试品、无菌检查使用器材、稀释剂和培养基，不会由于灭菌剂的渗透而影响供试品中低水平微生物污染的检出。建议用化学和微生物挑战试验测试包装物对灭菌剂渗透的抵抗能力，微生物试验时应使用至少经过一轮完整灭菌循环处理后的物品，验证其能符合相应微生物种类的回收试验的要求。

对于无法通过包装完整性验证的供试品,用户应考虑其在隔离系统中操作的风险。

隔离系统内部环境的无菌维持

隔离系统内部环境在操作周期内的无菌维持能力可通过执行微生物监测程序进行验证。在进行连续多天的无菌维持时,带传递舱的系统可每天进行采样,不带传递舱的系统可在灭菌后的第一天和无菌维持期的最后一天进行采样,并对采样进行培养。通过周期性的采样分析,实现对舱内无菌维持情况的验证。因隔离系统出现故障或者偶然因素引起的微生物污染必须进行调查。

除浮游菌和沉降菌外,隔离系统内部表面可采用平面接触碟、不规则的表面可采用拭子擦拭采样进行微生物监控。由于培养基残留会使隔离系统产生染菌风险,因此,最好在检验完成后进行表面微生物监测,如果在检验过程中进行采样,需及时清理培养基残留。

检验用具和供试品进入舱内的过程最可能造成微生物的污染,所以应确保进入隔离系统物品及传递过程的无菌性。

手套和半身衣是另一个微生物污染源,尤其是用于处理无菌检验物品的手套,应当特别关注。试验用手套应保证其完整性,选择手套时应考虑其穿刺抗性和耐磨性,并有良好的触感。

舱体内部进行连续的悬浮粒子检测,可快速检测到过滤器的泄漏,也可使用便携式的悬浮粒子检测器进行周期性检测,悬浮粒子和微生物采样不能对舱体内部的无菌环境产生影响。

日常使用规范

为保障设备性能处于受控状态,用户应制定日常使用规范,一般包括以下几个方面:

(1) 完整性检测

在每次无菌检查开始前及结束后,建议对舱体和手套/袖套的完整性进行检测,检测频率也可根据风险评估确定。

手套完整性检测按运行确认中的隔离系统完整性项下方法进行,也可采用其他方法如微生物法作为补充,检测时将手套浸入适宜培养基或冲洗液中,然后将浸泡液直接培养或采用薄膜过滤处理后取滤膜培养,根据是否生长微生物判定手

套的完整性，本法可以检测出其他方法检测不出的泄漏。

(2) 监测和记录

每次试验时，为确保设备按经验证的设定参数运行，应对设备运行状态和内部环境指标进行监测和记录。

(3) 日常清洁

无菌检查用隔离系统每次试验前后应进行清洁，对内部和物品包装表面的清洁程度以达到肉眼可见的干净干燥为宜。

灭菌程序开始前，对表面的预清洁有利于降低微生物负荷，保障灭菌效果。试验后，应注意被检样品残留的清洁，特别是抗生素类产品，以避免影响后续被检样品中污染微生物的检出。选用的清洁剂应具有良好清洁效果，不腐蚀材质，残留对无菌检查无不利影响。清洁工具建议采用无尘材料，清洁方法、频度及清洁用设备和材料应予以规范。

(4) 培训与安全

操作人员在使用隔离系统进行无菌检查前，应接受特定操作规程、日常维护及安全相关知识的培训，并经考核合格后上岗，按权限级别进行隔离系统的操作。培训内容及考核成绩应记录在个人培训记录中。

操作人员必须遵守化学灭菌剂贮存及使用的安全事项的规定，应在隔离系统安装地点的显著位置张贴化学灭菌剂的材料安全数据表（MSDS）。隔离系统使用前，需要对设备的安全性进行检查并做好使用记录；使用时还应注意电气安全，预防灭菌剂泄漏可能造成的电气事故。计算机化系统控制的设备，应考虑记录数据的安全保存。

(5) 维护和周期性回顾

应根据使用特点和供应商建议制定预防性的设备维护和耗材更换计划，定期检查并根据使用情况及时更换，常用耗材包括手套、半身服、空气过滤器、密封垫圈、蠕动泵管、聚氯乙烯舱体等。

建议定期对隔离系统使用情况进行总结，内容可涵盖无菌检查结果回顾、环境数据统计和趋势分析、历次故障/偏离情况的调查、硬件和软件升级情况调查、操作规程修订回顾等。

无菌检查结果的解释

如果隔离系统处于良好的验证和维护状态，其系统的完整性经过确认，且内部空间及表面已经过灭菌工艺处理，操作人员与无菌检查环境没有直接接触，那么在经过验证且功能正常的隔离系统内进行无菌检查，假阳性结果很低。尽管如此，隔离系统也仅是个机械设备，操作人员仍需遵循无菌操作规范。当出现无菌检查试验结果阳性时，应按照无菌检查法（通则 1101）中结果判断的要求进行分析，并作出该试验结果是否有效的判定。

征求意见稿